

ANNEE 1954

T H E S E

Nº

577

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par Gilbert MALINVAUD

né le 22 Avril 1925 à LIMOGES (Hte Vienne)

Présentée et soutenue publiquement le

1954

LES THROMBOAGGLUTININES AU COURS DES PURPURAS THROMBOPENIQUES

(Etude critique à propos de 3 observations)

Président : M. le Professeur Robert DEBRE

Editeur : M. GERMAIN - 92, rue de Rennes - PARIS (62)

1954

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1954

T H E S E

N^o

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par Gilbert MALINVAUD

né le 22 Avril 1925 à LIMOGES (Hte Vienne)

Présentée et soutenue publiquement le 1954

LES THROMBOAGGLUTININES AU COURS DES PURPURAS THROMBOPENIQUES

(Etude critique à propos de 3 observations)

Président : M. le Professeur Robert DEBRE

Editeur : M. GERMAIN - 92, rue de Rennes - PARIS (6^e)

R. UNIV.
THEER



DOYEN HONORAIRE :

M. DAUDOUIN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BAUDOUIN, BRINDEAU, CADENAT, CARNOT, CHABROL, CHEVASSU, CHIRAY, CLERC, DELBET, GOUGEROT (H.), GUILLAIN, HARVIER, LAUBRY, LEMAITRE, LEMIERRE, LHERMITTE, LIAN, LOEPER, MARION, MATHIEU, MOCQUOT, MULON, OLIVIER (E.), OMBREDANNE, SANNIE, SEZARY, TANON.

DOYEN : Léon BINET,
Membre de l'Institut.

ASSESEUR : Jean VERNE.

I.- PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie pathologique	DELARUE (A.)
Bactériologie	GASTINEL (P.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	VERNE (J.)
Cancérologie médicale et sociale	HUGUENIN (R.)
Carcinologie	OBERLING (C.)
Chimie médicale	POLONOVSKI (M.)
	(Hôtel-Dieu BROcq (P.)
Cliniques chirurgicales	(Broussais DE GAUDART D'ALLAINES (F.)
	(Salpêtrière MONDOR (H.)
	(Cochin QUENU (J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de cardiologie	DONZELOT (E.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS (D.)
Clinique de puériculture	LELONG (M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS (R.)
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)
Clinique des maladies du système nerveux	ALAJOUANINE (T.)
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY (J.)
Clinique du diabète sucré et des maladies de la nutrition	BOULIN (R.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
	(Hôtel-Dieu BENARD (H.)
Cliniques médicales	(Bichat LAROCHE (G.)
	(Cochin MOREAU (R.)
	(Broussais DE GENNES (L.)

Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique		JUSTIN-BESANCON (L.)
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR	VALLERY-RADOT (L.)
	(Tarnier	LANTUEJOUL (P.)
Cliniques obstétricales	(Baudelocque	LEVY-SOLAL (E.)
	(Port-Royal	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique		VELTER (E.)
Clinique oto-rhino-laryngologique		AUBIN (A.)
Clinique physio-pathologique des problèmes alimentaires (chaire à titre personnel)		RICHET (C.)
Clinique psychiatrique infantile		HEUYER (C.)
Clinique rhumatologique et sociale		COSTE (F.)
Clinique stomatologique		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale		SENEQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale		LEMAIRE (A.)
Clinique urologique		FEY (B.)
Embryologie		GIROUD (A.)
Génétique		LAMY (M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie		MOUQUIN (M.)
Histologie		CHAMPY (C.)
Hygiène et clinique de la première enfance		CATHALA (J.)
Hygiène et médecine préventive		JOANNON (C.)
Médecine du Travail		DESOLLE (H.)
Médecine légale		PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale		GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale		N...
Pathologie exotique		LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée		LENEGRE (J.)
Pathologie médicale		BARIETY (M.)
Pathologie et thérapeutique générales		N...
Pharmacologie et matière médicale		HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (Chaire à titre personnel)		DOGNON (A.)
Physiologie		BINET (L.)
Physique médicale		STROHL (A.)
Radiologie médicale		DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale		MOULONGUET (P.)
Thérapeutique		TURPIN (R.)

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

	MM.
Anatomie	(DEBEYRE (J.)
	(DELMAS (A.)
	(N...
Anatomie pathologique	(GAUTHIER-VILLARS
	((Mlle P.) Pr.s.ch.
	(BUSSET (F.)
	(GOUYGOU (C.)
Bactériologie	(FASQUELLE (R.)
	(NEVOT (A.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)

Chimie médicale	(ETTORI (J.) Pr. s. ch. JAYLE (M.F.) Pr. s. ch. SCHAPIRA (G.)
Dermato-syphiligraphie	DUPERRAT (F.)
Histologie	(BULLIARD (H.) Pr. s. ch. COUJARD (R.) N...
Hydrologie	DEBRAY (C.)
Hygiène	(BOYER (J.) DEPARIS (M.)
Médecine légale et du travail	(DEROBERT (L.) GAULTIER (M.) HADENGUE (A.)
Neurochirurgie	DAVID (M.)
Neurologie	SEZE (S. de)
	(GRASSET (J.) LEPAGE (F.) MAYER (M.) MERGER (R.) MORIN (P.) RAVINA (J.) VARANGOT (J.)
Obstétrique	(OFFRET (G.) DESVIGNES (P.)
Ophtalmologie	JUDET (R.)
Orthopédie	(HALPHEN (E.) Pr. s. ch. AUBRY (M.) MADURO (R.)
Oto-rhino-laryngologie	(BRUMPT (L.) CHABAUD (A.)
Parasitologie	(ABOULKER (P.) BAUMANN (J.) GOSSET (J.) HUGUIER (J.) LAURENCE (G.) LEGER (L.) LORTAT-JACOB (J.) OLIVIER (Cl.) PADOVANI (P.) POILLEUX (M.) ROUX (M.) RUDLER (J.-C.) VERNE (J.-M.)
Pathologie chirurgicale	

	MM.
Pathologie expérimentale	MERKLEN (P.)
	(BERNARD (J.)
	(BOUDIN (G.)
	(CASTAIGNE (P.)
	(CONTE (M.)
	(DECOURT (J.)
	(DOMART (A.)
	(DREYFUS (Gilbert)
	(FAUVERT (R.)
Pathologie médicale	(HAMBURGER (J.)
	(KOURILSKY (R.)
	(LAMOTTE (M.)
	(LAROCHE (C.)
	(MILLIEZ (P.)
	(PEQUIGNOT (H.)
	(PERRAULT (M.)
	(RAMBERT (P.)
	(THIEFFRY (St.)
	(TURLAF (J.)
	(JOSEPH (R.)
Pédiatrie	(LAPLANE (R.)
	(MARIE (J.)
	(LEVY (Mlle J.)
	(Pr. s. ch.
Pharmacologie	(CHEYMOL (J.H.)
	(Pr. s. ch.
	(BARGETON (D.)
Physiologie	(Pr. s. ch.
	(PARROT (J.L.)
	(DJOURNO (A.)
Physique médicale	(Pr. s. ch.
	(GOUGEROT (L.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
Psychiatrie	BARUK (H.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX (L.)
	(CERNEA (P.)
Stomatologie	(CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	PERRAULT
	chargé de l'enseignement
Urologie	KUSS (R.)

III.- PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES
RAPPELES A L'EXERCICE
pour le service des examens

MM. BRINDEAU (A.) (Obstétrique), GATELLIER (J.) (Clinique chirurgi-
cale), LE LORIER (V.) (Obstétrique), VAUDESCAL (R.) (Obstétrique).

IV.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES
CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent.

	MM.
Clinique chirurgicale.....	(AMELINE (A.) MENEGAUX (G.) PATEL (J.) SICARD (A.)
Clinique médicale	(BROUET (G.) CACHERA (R.) GARCIN (J.) HAGUENAU (M.) Pr. s. ch. MARCHAL (G.) SOULIE (E.)
Clinique obstétricale	(DIGONNET (L.) ECALLE (G.)
Clinique ophtalmologique	RENARD (G.)
Clinique urologique	COUVELAIRE (R.)

Secrétaire général de la Faculté : Mr. MOREL (J.)
Secrétaire : Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur, chargé de la direction Docteur HAHN (A.)
Conservateur Mlle GOICHON
Bibliothécaires (Mlles DUMAITRE (P.), LE NOIR (G.),
METIN (F.), QUIEVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'Ecole a
arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront
présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs
et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DU PROFESSEUR GILBERT BALLET
ET DU DOCTEUR RAYMOND GLENARD

Leur souvenir m'a guidé dans la voie médicale.

A LA MEMOIRE DU DOCTEUR ARNAUD TZANCK

Sa bienveillance et ses conseils m'ont orienté
vers la recherche physiologique.

A MES PARENTS

Leur affection me fut d'un soutien permanent.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

M. le Professeur ROBERT DEBRE

En hommage pour son enseignement et pour l'honneur
qu'il nous fait en président cette thèse.

AU DOCTEUR JEAN DAUSSET

Il nous a accueilli avec amitié dans son laboratoire
et a guidé chaque jour le travail expérimental et
critique.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

1943 - LIMOGES :

M. le Docteur DURAND,
M. le Docteur DELOTTE,
M. le Docteur ROBIN.

Ils apprirent au néophyte l'observation clinique.

1945 - PARIS :

M. le Professeur R. DEBRE,
M. le Professeur H. MONDOR,
M. le Professeur H. DESGREZ.

M. le Professeur agrégé BOULIN,
M. le Professeur agrégé LEGER,
M. le Professeur agrégé OLIVIER.

M. le Docteur TZANCK,
M. le Docteur AUROUSSEAU,
M. le Docteur EVEN,
M. le Docteur MAHOUDEAU,
M. le Docteur DE GRAZIANSKY,
M. le Docteur DUPUY.

Ils présidèrent à ma formation médicale;

En témoignage de mon respect et de ma reconnaissance.

AUX DOCTEURS MOZZICONACCI, BRISSAUD et MALLARME,

AU MEDECIN COMMANDANT MAUPIN,

Ils m'ont confié l'observation de leurs malades avec
bienveillance : qu'ils reçoivent ici l'expression de ma
gratitude.

A Madame J. EVELIN et Mademoiselle H. BRECY

En reconnaissance de leur aide et avec amitié.

AU DOCTEUR A. NENNA ET A TOUS MES AMIS.

S O M M A I R E

PREMIERE PARTIE : ETUDE HISTORIQUE DE L'IMMUNOLOGIE DES PLAQUETTES -

- Les sérums antiplaquettaires, étude chez l'animal :
 - mode d'obtention des sérums,
 - action in vivo,
 - spécificité d'action.
- Mise en évidence des anticorps antiplaquettaires chez l'homme :
 - les premiers travaux,
 - les transfusions de plasma,
 - les tests d'agglutination,
 - les tests de lyse,
 - les injections des sérums malades à l'animal,
 - mise en évidence des anticorps incomplets,
 - les groupes plaquettaires.

SECONDE PARTIE : OBSERVATIONS CLINIQUES ET SEROLOGIQUES -

- purpura thrombopénique au cours d'une tuberculose miliaire,
- purpura thrombopénique aigu idiopathique,
- purpura thrombopénique chronique.

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION SEROLOGIQUE -

- Techniques de recherches :
 - Tests d'agglutination,
 - Etude des caractères sérologiques,
 - Le test de Coombs plaquettaire,
 - La lyse plaquettaire,
 - Inhibition de la rétraction du caillot.
- Etude critique des résultats :
 - validité des tests,
 - étude statistique des résultats,
 - pouvoir thromboagglutinant chez le sujet normal,
 - échec des tentatives de mise en évidence des groupes plaquettaires.

QUATRIEME PARTIE . DISCUSSION CLINIQUE -

- Les purpuras thrombopéniques aigus,
- Les purpuras thrombopéniques chroniques,
- Conclusions thérapeutiques.

CONCLUSIONS -

Au cours de ces dernières années de nombreux travaux ont été entrepris pour préciser la physiopathologie des purpuras thrombopéniques idiopathiques. Parmi ceux-ci certains ont permis d'établir la notion de purpuras immunologiques : l'organisme serait capable dans certaines conditions, qui restent encore à préciser, de développer des anticorps dirigés contre ses propres plaquettes; ces anticorps agissant sur les plaquettes et l'endothélium vasculaire provoquent thrombopénie et purpura.

Cependant une telle conception se heurte à de nombreuses objections et les cadres nosologiques sont encore imprécis. Pour tenter de mettre un peu de clarté dans ce problème, nous avons recherché la fréquence et la signification des thromboagglutinines. Ainsi avons nous été amené tout d'abord à mettre au point une technique suffisamment sensible et fidèle, puis à faire de nombreux tests chez des sujets normaux et chez des malades.

Au cours de ces études il nous a été donné d'observer un certain nombre de sérums thromboagglutinants. Parmi ceux-ci 3 étaient ceux de sujets présentant un purpura thrombopénique dont les observations cliniques permettent de discuter les principaux problèmes théoriques et pratiques que soulèvent la mise en évidence des thromboagglutinines. Ce sont ces observations qui serviront de base à ce travail.

Ainsi devront être envisagés successivement :

- les différents travaux expérimentaux qui permirent d'établir la notion de purpuras immunologiques,
- les observations cliniques,
- les études aérologiques faites à leur propos,
- les problèmes diagnostiques, physiopathologiques et thérapeutiques que soulève la présence d'agglutinines antiplaquettaires chez les malades.

PREMIERE PARTIE

ETUDE HISTORIQUE DE L'IMMUNOLOGIE DES PLAQUETTES

Nos connaissances sur les anticorps antiplaquettaires ont été acquises en deux étapes : au début du siècle de nombreux expérimentateurs préparent des sérums antiplaquettaires, puis cliniciens et sérologistes tentèrent, à partir de 1948, de mettre en évidence chez les malades atteints de purpuras thrombopéniques une activité antiplaquettaire du sérum.

I^{re} Etape : ETUDE PHYSIOLOGIQUE DES SERUMS ANTIPLAQUETTAIRES CHEZ L'ANIMAL

M. F. MARINO en 1905 (1) fut le premier à préparer un sérum antiplaquettaires : Il obtient un sérum de cobaye actif contre les plaquettes de lapin : l'injection intraveineuse de ce sérum à la dose de 1 cc. provoque chez le lapin une destruction des plaquettes sans entraîner la mort de l'animal.

Puis CHEVEL et ROGER en 1907 (2) précisent qu'un tel sérum provoque in vitro des modifications morphologiques des plaquettes : Celles-ci deviennent globuleuses, perdent la régularité de leurs contours et leur réfringence, puis disparaissent. En même temps leur affinité tinctoriales pour les colorants basiques disparaît.

Ces premiers travaux donnèrent lieu à de nombreux autres. Plutôt que d'analyser tous ceux-ci, il vaut mieux étudier de façon synthétique les conclusions qu'ils ont permis.

Mode d'obtention des sérums antiplaquettaires

Le principe de la préparation de ces sérums est celui de toute l'immunologie; immunisation d'un animal vis-à-vis d'un antigène précis, puis saignée de l'animal et séparation du sérum.

L'antigène est constitué par une suspension plaquettaire la plus pure possible, libre de toute hématie, de tout leucocyte et de toute protéine étrangère. Le plus souvent il fut préparé par séparation des plaquettes à partir du sang prélevé sur anticoagulant, par centrifugations fractionnées. Puis les plaquettes furent lavées en solution de chlorure de sodium à 9 p. 1.000. Il semble d'ailleurs que cet antigène ne fut pas toujours absolument pur et que cet accueil ait entraîné parfois des erreurs dans l'interprétation des résultats.

L'immunisation des animaux fut réalisée par 4 à 6 injections de l'antigène fourni à partir de 40 à 70 cc. de sang, les injections étant faites à des intervalles de temps variant de 5 à 12 jours. Puis l'animal fut saigné de 5 à 10 jours après la dernière injection. De tels sérums purent être obtenus chez des espèces très différentes, au moyen de plaquettes d'autres espèces très nombreuses.

Actions in vivo des sérums antiplaquettaires

L'injection de tels sérums fut faite à des animaux de même espèce que ceux chez lesquels les plaquettes servant d'antigène, avaient été prélevées. Ainsi le sérum de lapin antiplaquettes de cobaye, par exemple, provoque chez le cobaye des troubles de différentes natures.

- Les troubles généraux : sont inconstants. C. SACERDOTTI (3-4) constate chez le receveur, peu après l'injection une hypotension artérielle avec tachycardie, de la dyspnée, des vomissements et parfois une parésie des membres et des parésies intestinales. L.M. TOCANTINS (5) observe 15 minutes après l'injection, des vomissements qui disparaissent vite, puis vers la 4^e, 5^e heure une hyperthermie persistant 24 à 48 heures. Cependant LESOURD et PAGNIEZ (6) n'observent aucun trouble d'ordre général même lors de l'injection de sérums très puissants.

- Les troubles hémorragiques : sont d'intensité variable avec les doses de sérums injectées. Elles intéressent les téguments, les muqueuses et parfois les viscères.

- Les troubles hématologiques : déjà mis en évidence par SACERDOTTI (4), L. LESOURD et PH. PAGNIEZ (6), R.I. LEE et O.H. ROBERTSON (7) ont été à nouveau précisés par L.M. TOCANTINS (8).

Les hématies sont souvent diminuées en nombre au cours des premières heures, mais une anémie importante ne survient que lors de la phase hémorragique. La réparation globulaire se fait ensuite lentement.

Les leucocytes peuvent diminuer en nombre au cours des 6 premières heures, sans que ce phénomène soit constant. Mais vers la 24^e heure apparaît une hyperleucocytose, constante et dont le maximum correspond au début de la réaugmentation des plaquettes dans le sang périphérique.

L'évolution de la thrombopénie et des troubles de la crase sanguine sont plus caractéristiques : 3 à 5 heures après injection intrapéritonéale de sérum antiplaquettaire apparaît une thrombopénie persistant

en moyenne 48 à 72 heures, mais pouvant se prolonger jusqu'au 7^e jour. Elle est suivie d'une augmentation des plaquettes puis d'une hyperthrombocytose dont le maximum se situe le 8^eme, 12^eme jour après le dernier jour de thrombopénie. Cette hyperthrombocytose persiste environ 2 semaines. Pendant la même période existent des altérations morphologiques des plaquettes : 3 à 4 heures après l'injection déclanchante apparaissent dans la circulation des plaquettes anormalement grandes dépourvues de hyalomère, très basophiles et possédant des granulations grossières, alors que la thrombocytose diminue déjà de 1/2 à 2/3. Puis ces éléments disparaissent pour réapparaître lors de l'ascension de la thrombocytose. Leur pourcentage maximum se situe entre la 52^eme et la 72^eme heure après l'injection du sérum antiplaquettaire. Enfin elles font place à des plaquettes plus petites.

Parallèlement le temps de saignement s'allonge, atteignant son maximum vers la 24^eme heure, puis revient progressivement à la normale, alors que la thrombopénie se répare. Cependant TOCANTINS signale la possibilité de l'apparition d'un allongement du temps de saignement avant même l'apparition de la thrombopénie.

La coagulation, par contre, est peu influencée et les troubles observés témoignent tantôt d'une hyper, tantôt d'une hypo-coagulabilité sanguine, Mais le caillot obtenu est irrétractile pendant toute la période thrombopénique.

- Les lésions anatomiques sont plus ou moins diffuses suivant l'intensité des doses injectées. On observe au niveau des organes hémo-poïétiques une altération des mégacaryocytes lors de la phase initiale d'hypoplaquettose, puis une réaction érythroblastique plus ou moins importante et surtout une augmentation des mégacaryocytes lors de la réparation sanguine.

Au niveau de la zone d'injection, d'autre part, existe une infiltration oedémateuse et purpurique qui s'étend excentriquement mais si la dose de sérum est suffisante, tous les organes sont le siège d'une infiltration hémorragique (J.C. LEDINGHAM et S.P. BEDSON (9-10). De plus, T. WITABIKI (11) insiste sur les lésions de l'endothélium vasculaire qui apparaît détruit par places. L.H. TOCANTINS et H.L. STEWART (12) enfin précisent qu'au stade d'hypothrombocytose, alors que le temps de saignement est redevenu à peu près normal, se forment des thrombus plaquettaires notamment au niveau de la rate.

Etude de la spécificité d'action des sérums antiplaquettaires

Cependant dès les premiers travaux le principe même de la nature immunologique des troubles observés fut l'objet de nombreuses discussions et il convient de :

- discuter les rapports des troubles observés et des phénomènes anaphylactiques,
- exposer les arguments apportés en faveur de la nature immunologique du phénomène,
- prouver la spécificité d'action des sérums antiplaquettaires.

12 - Le problème de l'anaphylaxie :

Les troubles occasionnés par les sérums hétérologues et les sérums antiplaquettaires présentent quelques analogies de telle sorte que certains auteurs ont pu soutenir que les troubles que nous venons de décrire n'avaient aucune individualité. Cependant l'analyse précise de ceux-ci montre des différences importantes. (CH. ACHARD et M. AYNAUD (13 à 15).

L'injection de peptone de Witte ou de sérum hétérologue ne provoque lors d'une première injection que des signes discrets. Il faut pour qu'apparaissent des signes graves, soit des doses importantes, soit une sensibilisation préalable de l'organisme par des injections antérieures. L'injection de sérum antiplaquettaire au contraire provoque des troubles importants dès la première injection, la répétition de doses égales n'entraîne aucune sensibilisation. Il semble même que parfois elle puisse provoquer l'apparition d'un état réfractaire.

La thrombopénie observée dans les accidents anaphylactiques n'a pas les mêmes caractères que celle induite par le sérum antiplaquettaires : elle est en effet brusque, apparaissant 2 à 10 minutes après l'injection déclanchante, importante, puisqu'elle atteint 80 à 98 % de la valeur de la thrombocytose initiale. Mais les plaquettes réapparaissent rapidement puisque une heure après l'injection déclanchante elle atteint déjà 50 % de sa valeur initiale et qu'elle remonte à son taux initial en quelques heures. De plus les plaquettes ne présentent aucune anomalie morphologique.

L'étude anatomique montre au cours du choc peptonique des images d'agglomération plaquettaire dans les vaisseaux de différents organes et principalement du foie, lors de la phase thrombopénique. Ces images disparaissent lors de la phase de réascension du nombre des plaquettes circulantes. De telles images ne furent jamais retrouvées dans les thrombopénies secondaires à l'injection de sérums antiplaquettaires (H. WEIM-BRENNER) (18).

Enfin W.O. CRUZ et H. MOUSSATCHE (17 à 20) mettent en évidence des différences biologiques importantes :

- Il existe une hémococoncentration au cours du choc peptonique et une hémodilution lors des accidents par injection de sérum antiplaquettaire,

- La pointe histaminique caractéristique du choc peptonique est absente au cours des accidents antiplaquettaires,

- Enfin, une minute et demi après injection de sérum antiplaquettaire apparaît dans le sang une substance active sur les contractions de l'intestin isolé de cobaye. Cette substance ne peut être assimilée ni à l'histamine, ni à l'acétylcholine, ni à l'acide adénique, ni au potassium.

Ainsi les deux ordres d'accidents semblent bien relever de mécanismes différents. Toutefois il se peut, ainsi que le suggèrent W.O. CRUZ et H. MOUSSATCHE (17) que les troubles généraux, inconstamment observés, que la leucopénie, puis l'hyperleucocytose soient dues à la nature hétérologue du sérum utilisé.

2^e - Le phénomène observé est d'ordre immunologique :

L'étude de l'action in vitro des sérums antiplaquettaires sur les plaquettes de l'animal receveur, permet de reconnaître qu'il s'agit bien d'un phénomène immunologique.

R.I. LEE et O.H. ROBERTSON (7) préparent un sérum de lapin actif contre les plaquettes de cobaye. Celui-ci mis en présence de sang entier citraté ou oxalaté, de cobaye, provoque une agglutination puis une lyse des plaquettes, phénomène que l'on peut suivre par l'étude d'étalements colorés d'échantillons de sang prélevés à intervalles de temps réguliers.

S.P. BEDSON (21) montre que mis en présence de plasma riche en plaquettes, le sérum antiplaquettaire provoque en 2 heures à 37^o C. une agglutination marquée des plaquettes et des hématies. Ces faits sont confirmés par de nombreux auteurs. De plus cette agglutination peut être provoquée par des sérums inactivés, mais le sérum frais est capable de lyser les plaquettes de cobaye en 10 minutes, même à une dilution de 1/80. Un sérum de lapin non immunisé ne peut provoquer la lyse qu'à une dilution de 1/6.

Ainsi le complément paraît inutile pour que l'agglutination survienne, mais indispensable à la lyse. Pour confirmer ces faits R.I. LEE et O.H. ROBERTSON (7) reprennent leur expérimentation en utilisant un sérum antiplaquettaire frais, après inactivation, après inactivation et addition de complément. Ils constatent ainsi que le sérum frais ou le sérum inactivé mais recomplémenté provoque une lyse des plaquettes à des taux identiques, que le sérum inactivé n'a aucune action lytique. Enfin les dosages de complément faits avant et après la réaction montrent que le complément a été utilisé au cours de la réaction. H.J. GOTTLIEB confirme ces faits (22).

De plus l'activité agglutinant put être supprimée par absorption sur des plaquettes de l'espèce animale contre lesquelles elles sont actives.

Enfin L. LESOURD et PH. PAGNIEZ (23) montrèrent que le plasma oxalaté recalcifié auquel on ajoute une suspension plaquettaire et du sérum antiplaquettaire, coagule normalement, mais le caillot obtenu ne rétracte pas malgré un séjour de 24 heures à 37^o C. LEE et ROBERTSON confirment également ce fait.

3^e - Etude de la spécificité :

La spécificité d'espèce de l'action d'un sérum antiplaquettaire vis-à-vis de plaquettes d'une espèce animale bien déterminée est prouvée

par les expériences de J.C. LEDINGHAM et S.P. BEDSON (10), et par celles de R.I. LEE et O.H. ROBERTSON (7). Ainsi LEDINGHAM et BEDSON préparent-ils 3 sérums antiplaquettaires au moyen de plaquettes de rat, de cobaye et de lapin. Ils constatèrent, après l'injection des sérums à chacune des 3 espèces, que la thrombopénie n'apparaît que chez les animaux de l'espèce de ceux dont les plaquettes ont servi à l'immunisation des animaux donneurs. Ainsi, par exemple, le sérum antiplaquettes de lapin ne produit de thrombopénie que chez le lapin, mais non chez le rat, ni chez le cobaye.

La spécificité cellulaire. L'action exclusive de ces sérums vis-à-vis des plaquettes est plus difficile à démontrer. De fait des les premiers travaux, elle fut discutée et M. AYNAUD (24) en particulier, refuse de la reconnaître, se fondant sur les arguments suivants :

- in vivo la spécificité cellulaire est très relative,

- in vitro les sérums antiplaquettaires peuvent agglutiner les plaquettes et en présence de complément les lyser, mais ils peuvent aussi provoquer agglutination et lyse des hématies. Inversement les sérums anti-hématies peuvent agglutiner et lyser les plaquettes aussi bien que les hématies.

- les essais d'absorption n'ont pu mettre en évidence une dissociation de ces anticorps.

Or J.C. LEDINGHAM et S.P. BEDSON (10), puis S.P. BEDSON (25) purent lever ces objections. Ils comparèrent les actions in vivo des sérums antiplaquettes, antihématies, antileucocytes, antisang total, antisérum. Ils purent montrer ceci :

- les sérums antileucocytaires provoquent chez l'animal receveur une leucopénie rapide avec altérations des polynucléaires qui apparaissent vacuolisés et présentent des granulations cytoplasmiques basophiles. Cette leucopénie commence à se réparer dès le 2^e ou 3^e jour. Il s'y associe une anémie plus ou moins importante qui commence sa réparation vers la même date et s'accompagne de passage dans le sang d'hématies nucléées. Au point d'injection du sérum se produit une infiltration oedémateuse mais non hémorragique.

- le sérum antihématies provoque une anémie très importante puis après quelques jours une réparation de celle-ci. Il existe alors une érythroblastose sanguine et médullaire. Parfois s'y associent une thrombopénie légère persistant 2 à 3 jours et une leucopénie transitoire. Au point d'inoculation se produit une infiltration oedémateuse sans hémorragies locales.

- Le sérum antisang total provoque une chute importante des éléments des 3 lignées et des suffusions hémorragiques disséminées.

- Le sérum antisérum ne provoque aucune thrombopénie, aucune anémie.

Il ressort de ces résultats que chaque sérum possède un pouvoir lytique nettement plus marqué vis-à-vis de la lignée cellulaire ayant

servi à l'immunisation de l'animal donneur. Cependant l'action sur les autres lignées, bien que peu marquée, peut être observée : or ce fait est facilement explicable. La préparation de l'antigène est en effet délicate, la séparation totale des cellules d'une lignée n'étant pas toujours possible à obtenir, aussi reste-t-il toujours des plaquettes dans les suspensions d'hématies, des hématies dans les suspensions plaquettaires et des leucocytes dans chacune d'elles. Lors de l'immunisation de l'animal donneur, il se développe des anticorps contre les éléments des 3 lignées suivant la concentration de la suspension antigénique en chacune d'elles, on observera une action plus ou moins marquée vis-à-vis de chacune d'elles.

Les tentatives d'absorption -

L'étude in vitro peut dissocier ces 3 actions comme le prouvent les travaux de C. SACERDOTTI (4) et surtout ceux de S.P. BEDSON (21). Celui-ci montre tout d'abord qu'in vitro le sérum antisang total provoque une agglutination marquée de toutes les variétés cellulaires, que les autres sérums, antiplaquettaires, antiérythrocytaires, antileucocytaires agglutinent respectivement et de façon élective les plaquettes, les hématies et les leucocytes. L'agglutination des autres variétés cellulaires est faible. Ils montrèrent alors qu'un sérum possédant un pouvoir antiplaquettaire jusqu'à une dilution de 1/640 et un pouvoir antihématies marqué (taux de 1/280) ne possède plus aucun pouvoir agglutinant des hématies après absorption sur des globules rouges, mais conserve, après cette absorption un pouvoir antiplaquettaire non modifié. Par contre il ne put réussir à absorber totalement le pouvoir antiplaquettaire.

Expérimentation avec les plaquettes humaines -

Toutes ces recherches expérimentales concernent les plaquettes animales. Or des expériences analogues conjointement faites avec des plaquettes humaines, par d'autres auteurs R.I. COLES (26), MENNE (27). Elles permirent de généraliser les conclusions concernant le pouvoir antigénique des plaquettes.

Les faits constatés in vivo et in vitro lors de ces expérimentations peuvent être rapprochés de certains faits observés en clinique humaine. Cependant les premiers travaux qui permirent de mettre en évidence des anticorps plaquettaires au cours des purpuras thrombopéniques n'ont guère commencé qu'en 1948.

29 Etape : MISE EN EVIDENCE DES ANTICORPS ANTIPLAQUETTAIRES CHEZ L'HOMME

En effet à cette date L.C. GRANDJEAN (28) met en évidence au cours des purpuras compliquant un traitement par la quinine, un facteur thrombolytique capable, in vitro, d'entraîner la destruction des plaquettes en présence de quinine.

Mais en fait, les premiers travaux systématiques sont ceux de J.F. ACKROYD qui s'échelonnent de 1940 à 1951 (29 à 33) et portent sur les purpuras compliquant les traitements au Sédormid. Il peut en effet montrer que le sérum de ces malades mis en présence d'une suspension plaquettaire entraîne, seulement en présence de Sédormid, une agglutination de ces plaquettes. Cette agglutination survient même si on utilise un sérum décomplémenté. Par contre la lyse ne survient que si le sérum possède un taux de complément suffisant : celui-ci est de plus consommé au cours de la réaction. La rétraction d'un caillot normal est inhibé si on ajoute au sang à coaguler une certaine quantité du sérum du malade et du sédormid.

Le sédormid seul n'a aucune de ces actions. Enfin cherchant à inhiber la réaction de lyse plaquettaire, ACKROYD constate que si on utilise une suspension plaquettaire suffisamment riche, la rétraction du caillot est possible en présence du sérum du malade et du sédormid. En effet la totalité des anticorps est fixée par un certain pourcentage des plaquettes contenues dans la préparation, mais il reste un excès de plaquettes qui permet une rétraction normale.

Ces données expérimentales permirent à ACKROYD d'établir un schéma pathogénique des purpuras médicamenteux; le médicament se fixe sur les plaquettes dont il modifie la nature antigénique et l'organisme développe plus ou moins rapidement des anticorps contre ce nouvel antigène. Ainsi lors de la prise ultérieure du médicament et lors de celle-ci seulement les plaquettes sont détruites et le purpura survient. De plus ces anticorps auraient également une action nocive sur l'endothélium vasculaire, ce qui pourrait expliquer certaines particularités symptomatiques de ces purpuras.

Les expériences d'ACKROYD sont en fait celles qui servirent de base à de nombreux travaux. Peu après ses premières publications, R.S. EVANS et R.T. DUANE (34) émettent l'hypothèse suivante pour expliquer les thrombopénies et les leucopénies survenant au cours des anémies hémolytiques acquises : lors de l'immunisation initiale de l'organisme, il y aurait possibilité d'immunisation unique contre les hématies ou multiple contre plusieurs variétés cellulaires. Il se pourrait que cette immunisation multiple soit progressive et que se succèdent dans le temps et de façon variable l'anémie, la thrombopénie et la leucopénie. Deux ans plus tard ces mêmes auteurs et leurs collaborateurs (35) apportent une première preuve expérimentale de cette hypothèse : ils mettent en évidence dans le sérum de malades atteints d'anémie hémolytique acquise avec autoanticorps, un facteur thromboagglutinant et montre qu'au cours de certains purpuras thrombopéniques le test de Coombs érythrocytaire est positif.

Depuis de nombreux travaux ont été consacrés à ce sujet. Diverses méthodes de détection des anticorps plaquettaires ont été proposées et il convient de distinguer :

- des méthodes in vivo utilisant les transfusions de plasma chez l'homme,
- des méthodes in vitro d'agglutination et de lyse des plaquettes,
- des méthodes d'injection de sérums de sujets malades aux animaux de laboratoire.

Les transfusions chez l'homme

Deux techniques différentes ont été proposées :

W. HARRINGTON et des collaborateurs (37) proposent en effet en 1949 une méthode qui consiste à injecter à des sujets normaux le sang ou le sérum de malades atteints de purpura thrombopénique. Ils constatent chez le sujet transfusé une thrombopénie marquée, apparente en 30 à 60 minutes et maximum en 2 à 3 heures. Il s'y associe un allongement du temps de saignement et parfois même des accidents hémorragiques ont été constatés et persistèrent plusieurs jours. Tous ces troubles durent en effet 4 à 7 jours, temps nécessaire aux mégacaryocytes pour reformer des plaquettes. Enfin au niveau de la moelle osseuse les mégacaryocytes montrèrent dans quelques cas des caractères d'immaturation au cours de la période thrombopénique. Cette même méthode fut vérifiée depuis par des tests croisés et des tests faits in vitro, et par différents auteurs.

La seconde méthode consiste à injecter au malade un sang polycythémique riche en plaquettes ou même des suspensions plaquettaires pures et à déterminer le temps de survie des plaquettes injectées. Ce temps de survie est de 3 à 7 jours chez le sujet normal, il n'est que de quelques heures, ou même nul chez certains malades atteints de purpura thrombopénique idiopathique. Cette méthode fut préconisée par M. STEFANINI (36) et ses collaborateurs, puis vérifiés par plusieurs auteurs. Elle put dans quelques cas être contrôlée par des tests faits in vitro ou par la méthode précédente.

Les tests d'agglutination plaquettaire

J. DAUSSET, P. DELAFONTAINE et Y. FLEURIOT (38) observent en 1952 un purpura thrombopénique aigu au cours duquel ils purent mettre en évidence une agglutinine plaquettaire. Celle-ci est très active puisqu'elle agit à température du laboratoire; après un contact de 5 minutes entre un plasma riche en plaquettes recueilli sur citrate de sodium et le sérum de la malade il se produit une agglutination visible macroscopiquement. L'expérience put être reproduite avec 45 variétés de suspensions plaquettaires de donneurs de groupes différents. Enfin l'agglutination microscopique était obtenue avec un sérum dilué en solution de ClNa à 9 p. 1.000 à un taux de 1/64.

Peu après M. STEFANINI et ses collaborateurs (39) observaient un purpura thrombopénique chronique au cours duquel une agglutinine elle aussi très active était décelée. Ils purent en suivre l'évolution pendant une assez longue période et constatèrent que son titre d'activité baissait après traitement cortisonique, puis après splenectomie.

Cependant ce sont là les deux seuls cas où une agglutination put être facilement mise en évidence. Bientôt on s'aperçut que les tests employés étaient insuffisamment sensibles, et on s'efforça de les sensibiliser par des artifices de laboratoire.

M. STEFANINI, J.B. CHATTERJEA et Ed. ADELSON (40) observèrent alors, en centrifugeant les préparations avant lecture des tests des agglutinines ayant un titre d'activité de 1/8 dans deux autres cas de purpura thrombopénique.

Puis W. HARRINGTON et ses collaborateurs (41), utilisant une technique un peu différente, purent obtenir des tests positifs dans 14 cas de purpura thrombopénique aigu et dans 8 cas de purpura thrombopénique chronique. Ils mettent en présence le sérum à tester décomplémenté, déprothrombinisé, acidifié au 1/10 au moyen d'acide citrique N/10 et additionné de séquestrène, avec une suspension plaquettaire recueillie sur séquestrène. Ils font ensuite incuber la préparation pendant une heure à 37°, puis 2 heures à 42° C. Avant la lecture des tests une centrifugation est effectuée, puis les plaquettes sont resuspendues et la lecture est faite au microscope dans des cellules du type de celle de Malassez.

C.T. NOLTHENIUS, P.C. HOORWEG et J.J. VAN LOGHEM (42) par ailleurs utilisèrent une technique voisine de celle du test de ROSE : ils font une première incubation des plaquettes à tester dans le sérum du malade pendant une heure à 37°, puis ajoute à la préparation une quantité de sérum de lapin antiplaquettes humaines égale à la quantité de sérum humain utilisé. Après mélange et incubation de plusieurs minutes, ils constatèrent une agglutination macroscopique ou seulement microscopique. Des dilutions de chacun des deux sérums leur permettent de constater un taux d'agglutination plus élevé dans les préparations contenant les sérums malades que dans ceux contenant le sérum de sujets témoins normaux.

F. KISSMEYER-NIELSEN (43) utilise une autre technique consistant en ceci : il prépare tout d'abord un antigène plaquettaire soluble à partir de plaquettes de sujets normaux. Il prépare en même temps des hématies tannées par action de l'acide tannique en solution tamponnée à Ph 7,2. Puis il fait agir la préparation d'antigène sur ces hématies de telle sorte que celles-ci fixent l'antigène. Ayant ainsi obtenu un système antigénique, il fait agir pendant 30 minutes à la température du laboratoire le sérum du malade sur cette préparation. L'agglutination de ces hématies prouve la positivité du test.

Personnellement, nous avons utilisé avec J. DAUSSET (44) une technique plus simple s'aidant d'une agitation de la préparation sérum à tester - suspension plaquettaire, sur l'agitateur de KLINE.

Les tests de lyse plaquettaire

Parallèlement à ces tests d'agglutination, des tests de lyse des plaquettes in vitro furent mis au point. Déjà DAUSSET d'une part et STEFANINI d'autre part avaient observé que les sérums de leurs malades étaient capables de provoquer la lyse des plaquettes et d'inhiber la rétraction d'un caillot normal.

M. NINNI (45) pour apprécier la valeur de cette lyse, met en contact une suspension plaquettaire avec le sérum des malades. Il fait des numérations de plaquettes dans les échantillons prélevés au moment de la mise en contact et après séjour de 3 heures à 37°. La différence entre les résultats obtenus lui permet une évaluation quantitative du phénomène.

J.L. TULLIS d'autre part (46), utilise une technique à peu près identique et considère comme caractéristique une chute du nombre des plaquettes supérieure à 5% (les cas positifs donnent habituellement une chute égale ou supérieure à 14 %).

M. JAMRA, C. De ANGELIS et leurs collaborateurs (47) se servent d'une technique différente consistant dans l'évaluation du volume des plaquettes contenues dans la préparation. Ils utilisent pour ceci le "thrombocytocrite" de Van ALLEN. Une première mesure est faite lors de la mise au contact des plaquettes et du sérum à tester. Une deuxième est faite 15 minutes après contact, et des contrôles sont effectués après 2 heures et 24 heures. La comparaison des résultats avant et après incubation permet une évaluation quantitative de la lyse.

L'injection à l'animal

P. MIESCHER, L. CRUCHAUD et G. HEMMELER (48) proposent un test tout à fait différent : ils injectent à un lapin neuf une dose de sérum ou de plasma hépariné du malade et constate chez celui-là une chute plaquettaire maximum en quelques heures et persistant plusieurs jours. Vingt-quatre heures après l'injection du sérum la thrombocytose, de l'animal a une valeur de 50 % de sa valeur initiale. Les sérums témoins donnent une chute plaquettaire d'une durée maximum de 3 heures. De plus cherchant à établir la dose mortelle d'un tel sérum, ils constatent qu'elle est très inférieure à celle d'un sérum normal (3 à 6 cc. par kilogramme de poids). Le test peut être aussi fait chez le cobaye avec les mêmes résultats.

M. JAMRA (47) constate également que le sérum de son malade produit chez le chien une diminution très sensible du volume des plaquettes contenues dans le plasma de l'animal receveur.

Mise en évidence des anticorps incomplets

Devant l'inconstance des résultats obtenus par les tests d'agglutination, certains auteurs ont tenté d'obtenir la preuve de l'existence d'anticorps incomplets fixés sur les plaquettes des malades. Déjà STEFANINI avait pu montrer chez sa première malade que l'antiglobuline de COOMBS était capable d'agglutiner les plaquettes lavées 3 fois en milieu salin.

P. FLUCKIGER, H. HAESSIG et F. KOLLER (49) reprennent l'étude du "test de COOMBS plaquettaires" chez 5 malades atteints de purpura thrombopénique et 30 sujets normaux servant de témoins. Ils constatèrent que les plaquettes de 3 de leurs malades étaient agglutinées par une antiglobuline diluée de 1/32 à 1/64. Les plaquettes des 2 autres malades et des sujets normaux n'étaient agglutinées que par la même antiglobuline pure, ou dans un cas diluée au 1/2.

Cependant dans la pratique habituelle cette technique se heurte à la difficulté que l'on a à isoler les plaquettes de sujets ayant une thrombocytose inférieure à 100.000.

La multiplicité des techniques montre les difficultés auxquelles on se heurte dans l'étude des anticorps antiplaquettaires. Celles-ci sont d'ailleurs accrues par le fait que l'on connaît mal la nature des antigènes plaquettaires.

Les groupes plaquettaires

En effet les différentes tentatives faites pour mettre en évidence des groupes plaquettaires ont abouti à des résultats divergents qui ne permettent encore de décrire avec certitude aucun groupe de plaquettes.

W. HARRINGTON et ses collaborateurs (41) remarquent que parmi leurs malades porteurs d'une thromboagglutinine, certains avaient déjà reçu avant les premiers tests plusieurs transfusions. De plus certains de ces thromboagglutinines n'étaient actives que contre quelques variétés plaquettaires seulement. Il est vrai que ce dernier fait se trouve de portée très limitée par suite de l'autoagglutination observée à propos d'un de ces sérums; ce sérum agglutinait quelques variétés plaquettaires seulement mais aussi celles du malade lui-même.

De même ils remarquèrent que certains purpuras thrombopéniques néonataux survenaient chez les nouveaux-nés de mères saines : le sérum de celles-ci dans deux cas se montra capable d'agglutiner les plaquettes de l'enfant. Enfin ces purpuras présentent une évolution analogue à celle des érythroblastoses périnatales : en quelques jours après la naissance le taux des plaquettes monte à un niveau normal et le purpura disparaît.

Pour établir le nombre et la fréquence exacts des antigènes plaquettaires vraisemblables, ils testèrent les plaquettes de 40 sujets normaux au moyen de 10 sérums tests; ces sérums tests furent ceux de sujets ayant reçu de nombreuses transfusions. Ils purent ainsi isoler 8 groupes plaquettaires indépendants du système ABO.

Suspensions plaquet- taires.	Sérum témoin	S E R U M S T E S T S										% des groupes
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	18 %
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20 %
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	18 %
IV	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	10 %
V	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	8 %
VI	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	5 %
VII	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	5 %
VIII	-	5 groupes différents de chacun moins de										5 %

Tableau donné par HARRINGTON (41).

Ils transfusèrent ensuite à un sujet du type III, 50 cc. de sang de type I toutes les semaines. Après 5 semaines de traitement ils

observèrent l'apparition dans le sérum du receveur d'agglutinines actives sur les plaquettes de groupe I seules. Ainsi concluent ils que si les agglutinines naturelles n'ont pas été constatées, des agglutinines immunes peuvent se développer, soit après transfusions multiples, soit après grossesses répétées.

Cependant les conclusions de M. STEFANINI ne correspondent pas avec celles-ci. Cet auteur en effet et ses collaborateurs (50) testèrent sur les plaquettes de 215 sujets normaux, les sérums de ces mêmes sujets. Il s'agissait de donneurs normaux, n'ayant reçu aucune transfusions, ne suivant aucun traitement, les femmes dont les sérums furent testées n'avaient pas eu de grossesse. Ils trouvèrent ceci :

- 13 sérums, soit environ 6 % agglutinaient les plaquettes de certains donneurs,
- 41 variétés plaquettaires, soit environ 19 % étaient agglutinées par un ou plusieurs sérums.

Ils purent ainsi conclure à l'existence de 2 agglutinogènes auxquels correspondraient des agglutinines naturelles. Ils pensent à l'existence de 4 groupes, indépendants du système ABO et dont la fréquence seraient :

- | | |
|--|--------|
| - groupe I correspondant à l'agglutinogène I | 10,2 % |
| - groupe 2 correspondant à l'agglutinogène II | 4,6 % |
| - groupe 3 correspondant à l'agglutinogène I et II | 3,7 % |
| - groupe 4 correspondant à l'absence d'agglutinogène | 81,5 % |

Ces résultats furent confirmés par des essais d'absorption : l'agglutinine anti I fut absorbée par des plaquettes I et 3, l'agglutinine anti-II par les plaquettes 2 et 3. Enfin des immunisations contre les plaquettes de groupes déterminés purent être obtenues chez des sujets volontaires.

Mais à côté de ces groupes, ils mirent en évidence des "types plaquettaires". Prenant 15 sujets ayant développé des agglutinines anti-plaquettaires à la suite de transfusions, ils trouvèrent que 6 d'entre eux agglutinaient 50 variétés de plaquettes contre lesquelles ils furent testés avec des titres de 1/4 à 1/8 : ils concluent qu'il s'agit là de panagglutinines. Mais 9 autres donnèrent des agglutinations avec quelques variétés de plaquettes seulement : ils utilisèrent alors ces sérums comme sérums-tests et isolèrent 6 types sérologiquement distincts.

Cependant les absorptions ne purent être faites qu'avec les plaquettes de types I, 3 et 6. In vivo l'immunisation d'un sujet de type 3 put être renforcée par transfusions plaquettaires.

(Voir tableau page suivante)

PLASMAS	P L A Q U E T T E S					
	I	II	III	IV	V	VI
I	+	+	-	-	-	+
2	+	-	-	+	+	-
3	+	-	-	+	-	-
4	+	-	-	-	+	-
5	+	+	-	-	-	-
6	+	-	-	+	-	-
Fréquences :	34,42	10,28	18,43	18,28	16,16	2,43 %

Les types plaquettaires. STEFANINI (50)

J. GUREVITCH et D. NEKLEN (51) enfin apportent des résultats différents : alors que HARRINGTON et STEFANINI n'avaient trouvé aucune relation entre les différentes variétés de plaquettes et les groupes du système ABO, ces auteurs purent établir que les plaquettes étaient porteuses des mêmes antigènes ABO que les hématies. Les sérums anti-A agglutinent normalement les plaquettes de sujet de groupe A et celles-ci seulement, les sérums anti-B les plaquettes des sujets B et les sérums des sujets O agglutinent les plaquettes des sujets A et B. Au contraire les sérums AB n'ont agglutiné aucune variété de plaquettes de même que les plaquettes des sujets O n'ont été agglutinés par aucun sérum. Les réactions se montrèrent positives à température du laboratoire et à 37° C.

Telles sont les expériences qui ont permis de conclure à la possibilité de l'immunisation de l'organisme contre ses propres plaquettes ou contre des plaquettes étrangères. Cependant, si prises chacune à part elles semblent apporter des preuves suffisantes pour établir des analogies entre les troubles immunologiques connus dans la série érythrocytaire et certains troubles en relation avec les plaquettes, leur confrontation montre de nombreuses divergences et prouve que le problème n'est pas définitivement résolu.

Dans les chapitres qui vont suivre nous rapporterons les expériences que nous avons faites au centre national de transfusion et tâcherons de dégager les quelques notions pratiques que l'on peut considérer comme établies. Nous tenterons également d'entrevoir les possibilités de cette branche de l'immunohématologie.

DEUXIEME PARTIE

OBSERVATIONS CLINIQUES ET SEROLOGIQUES

Nous avons eu l'occasion au cours de ces derniers mois de suivre quelques cas de thrombopénies aux cours desquelles des agglutinines anti-plaquettaires purent être décelées. Parmi eux 3 nous ont paru particulièrement intéressants : 2 purpuras thrombopéniques aigus et 1 purpura thrombopénique chronique. En voici les observations cliniques et sérologiques.

Observation I

PURPURA THROMBOPENIQUE AIGU SURVENANT AU COURS D'UNE TUBERCULOSE AIGU ET D'EVOLUTION MORTELLE

Enfant FR... MAUD, âgée de 14 ans. Il s'agit dans cette première observation d'une enfant bien portante jusqu'en Août 1953. A cette date survient un épisode fébrile aigu, sans signe de localisation et qui cède à l'administration d'auréomycine.

Environ un mois plus tard, l'enfant se plaint de douleurs du médius gauche et surtout de douleurs de la cheville gauche. Ces dernières s'accompagnent de gonflement local et rendent la marche douloureuse, sans obliger toutefois au repos allongé. Le diagnostic de rhumatisme infectieux est alors porté et il est prescrit un traitement de 5 grammes de salicylate de soude par jour, un traitement local. Les troubles disparaissent alors en une semaine environ.

Cependant au début du mois d'Octobre, des adénopathies cervicales sont observées pour la première fois. Les ganglions sont indolores, isolés les uns des autres et n'entraînent aucune gêne fonctionnelle, aucun prurit. Les adénopathies prédominent à droite. On s'aperçoit à la même date que l'enfant est fébrile (température à 37° 5 le matin et 38° le soir). Vers la fin du mois d'Octobre les adénopathies regressent sans que la courbe thermique redevienne absolument normale. La cutiréaction à la tuberculine est alors négative et la formule sanguine ne met en évidence qu'une légère hyperleucocytose (10.400).

Vers le 18 Décembre, la température monte à 40° et le médecin prescrit un traitement de 300 milligrammes par jour d'isoniazide, puis fait hospitaliser l'enfant. Lors de cette première hospitalisation on constate un amaigrissement évalué à environ 5 kilos d'après le poids constaté 3 mois auparavant. La leucocytose est normale, mais il existe une anémie à 3.000.000. La cutiréaction à la tuberculine est toujours négative. Une ponction ganglionnaire est faite et ses résultats, comparés aux troubles de l'état général orientent vers une "réticulose" ou une "polymitose". Pour préciser le diagnostic une biopsie excrèse des ganglions est proposée à la famille qui la refuse.

L'enfant est alors hospitalisée à la clinique pédiatrique des Enfants Malades au début du mois de Janvier 1954. On se trouve en présence d'une enfant pâle et amaigrie.

L'examen des aires ganglionnaires décèle dans la région sous angulomaxillaire droite de gros ganglions, roulant sous le doigt sans périadénite, indolores et n'adhérant pas au plan profond, mais semblant soudés entre eux. Ils transmettent les battements carotidiens. L'un est gros comme une noix, les autres comme des noisettes. Du côté gauche existent 3 ganglions plus petits mais présentant les mêmes caractères. La recherche d'autres adénopathies permet de reconnaître un petit ganglion au niveau de la région axillaire droite, un ganglion épitrochléen gauche de petite taille et quelques ganglions inguinaux bilatéraux peu volumineux.

La rate est palpable.

Au niveau du coude gauche existe une lésion crouteuse recouvrant une ulcération purulente. Il semble que cette lésion ait apparue 3 mois plus tôt. Elle aurait débuté par un érythème local.

Le reste de l'examen est normal : il n'y a pas d'hépatomégalie, aucune anomalie réflexe, aucun signe méningé, aucune anomalie cardiovasculaire. Le buccopharynx est normal.

L'enquête anamnestique n'apporte aucun renseignement pouvant orienter le diagnostic. Toutes les cutiréactions faites jusqu'à ce jour furent négatives.

Des examens furent alors faits dans les jours suivants pour préciser la nature exacte des adénopathies et rechercher une tuberculose possible.

L'examen hématologique donne les renseignements suivants : Au niveau du sang 3.390.000, valeur glabulaire 0,92, leucocytose 5.600 dont 87 % de polynucléaires neutrophiles, 6 % de lymphocytes, 7 % de monocytes et 1 % de plasmocytes. Les ponctions ganglionnaire et sternale ne montrèrent aucune anomalie cytologique.

Une tuberculose miliaire fut au contraire prouvée par les autres examens : radiographie pulmonaire montrant une image miliaire typique, ponction lombaire ramenant un liquide clair contenant 11 leucocytes au m/m³,

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

1000

0,20 gr. d'albumine, 0,48 de glucose et 0,114 de chlorure p. 1.000. L'examen direct ne met pas de B.K. à l'examen direct, mais la culture sur milieu de Loewenstein donne des résultats positifs.

L'examen des fonds d'yeux montre à gauche un tubercule choroïdien typique jeune.

Dans le culot urinaire obtenu par centrifugation il existe de rares cellules, de très rares hématies et l'examen bactériologique direct est négatif.

Un tubage gastrique ramène un liquide contenant des B.K. La culture sur milieu de Loewenstein des liquides prélevés par tubage et du pus prélevé au niveau du coude permet d'isoler un germe sensible à la streptomycine et à l'isoniazide.

Enfin une étude de la vitesse de sédimentation donne les résultats suivants : 1^{re} heure 78 m/m, 2^e heure 117 m/m.

Ainsi s'agit-il d'une malade atteinte de tuberculose aigue disséminée : les accidents initiaux peuvent être interprétés comme accompagnant la primo-infection : il est à noter qu'ils ne se sont accompagnés d'aucun phénomène purpurique.

Un traitement mixte est institué, comprenant l'administration quotidienne de 600 milligrammes d'isoniazide et 12 grammes de P.A.S. Dès le 3^e jour du traitement la température est normale; les ganglions ont diminué de volume au niveau des chaînes cervicales et disparu au niveau du creux axillaire gauche. Cependant 20 jours après le début du traitement apparaît à la face et aux membres une éruption faite de macules congestives, séparées par des intervalles de peau saine et accompagnée d'une recrudescence thermique. L'examen ne montre par ailleurs aucun trouble : les fonds d'yeux n'ont pas changé. La formule sanguine objective toutefois une éosinophilie à 9%. Pensant à un accident allergique au P.A.S. son administration est interrompue et on prescrit un traitement de Phénergan. Dans les jours qui suivent l'éruption se généralise à tout le corps puis se modifie prenant un aspect ortié.

Le 2 Février apparaît un syndrome hémorragique :

Il débute par un purpura pétéchial disséminé et une épistaxis abondante obligeant à instituer un traitement O.R.L. et qui dure de 16 à 23 heures. Le saignement recommence le lendemain matin. L'étude de la crase sanguine donne alors les résultats suivants le temps de saignement est arrêté volontairement à la 20^e minute, le temps de coagulation est de 13 minutes dans le premier tube et de 17 minutes dans le second, la rétraction du caillot est nulle après séjour de 3 heures à 37°. Les plaquettes sont au nombre de 66.000. En dehors de cette thrombopénie la formule sanguine est normale. Le taux de prothrombine est de 100 %. C'est à ce moment, alors qu'aucune transfusion n'a encore été faite, que les premiers examens sérologiques permirent de mettre en évidence une thrombo-agglutinine.

Le traitement d'isoniazide est alors interrompu, et on prescrit une transfusion de sang isogroupe A Rh+. Le lendemain apparaissent des suffusions hémorragiques au niveau des paupières et une hématurie importante. La rate dépasse le rebord costal de 3 travers de doigt. Cependant la numération globulaire ne montre pas de déglobulisation importante.

Dans les jours qui suivent les hémorragies continuent : épistaxis intermittentes, hématuries de sang presque pur ne s'interrompant pas. Cependant les éléments cutanés n'augmentent pas alors qu'apparaissent des hémorragies buccales et des bulles hémorragiques au niveau de la muqueuse buccale. Ces éléments augmenteront de nombre les jours suivants.

Une ponction sternale pratiquée le 4 Février permet un étalement riche montrant une légère réaction érythroblastique, en rapport probable avec l'anémie, mais surtout la présence de mégacaryocytes en nombre notable, un peu plus important que normalement. Tous leurs stades sont représentés, mais on peut noter une proportion élevée d'éléments à noyaux polysegmentés, contrastant avec un cytoplasme non granuleux. Les éléments granuleux sont cependant présents, certains paraissant au bord de la fragmentation.

Un nouvel examen immunologique est pratiqué le même jour et permet de confirmer l'existence d'anticorps antiplaquettaires et absence d'anticorps dirigés contre les hématies ou contre les leucocytes. Une électrophorèse faite sur papier objective une augmentation nette des gammaglobulines.

Cependant une rémission semble se dessiner les 5 et 6 Février, bien que l'hématurie persiste et que le nombre des hématies tombe à 2.970.000. Les plaquettes sont au nombre de 85.000, la rétraction du caillot est nulle après 24 heures à l'étuve à 37°. Mais cette amélioration ne persiste pas. Le 7 Février les lèvres, les gencives et le voile du palais sont le siège d'un important suintement hémorragique, de nouvelles bulles hémorragiques apparaissent sur la langue, l'hématurie persiste. Le 9 Février un léger suintement nasal a repris, les plaquettes sont au nombre de 20.000, la rétraction du caillot est toujours nulle.

Un traitement cortisonique est alors entrepris à la dose de 300 milligrammes par jour pris par voie buccale et associés à des transfusions massives de sang frais et de globules déplasmatisés. Le traitement antibiotique est repris associant streptomycine et isoniazide. Ainsi le 11 au matin l'aspect de la malade paraît meilleur, les hématies sont remontées à 3.450.000. Dans la journée du 11 l'état s'améliore encore : si la rate est toujours palpable, si le foie dépasse le rebord costal de 3 travers de doigt, le saignement bucco-pharyngé s'arrête, la diurèse atteint 4 litres et les urines s'éclaircissent. Cependant l'anémie oblige à poursuivre les transfusions.

Il semblait donc justifié d'espérer une évolution favorable, lorsque dans la nuit du 12 au 13 survient brutalement une hémorragie cérébroméningée avec compression du tronc cérébral qui entraîne la mort en quelques heures.

Le lendemain, 7 heures après la mort, la vérification anatomique des lésions est faite et permet les constatations suivantes :

- A l'ouverture du péritoine on constate l'existence d'une petite ascite hémorragique et de suffusions sanglantes étendues du grêle. Le foie est gros et ferme, il pèse 2.340 grammes. La rate pèse 200 grammes. Il n'y a pas de granulations évidentes sur ces organes tant en surface qu'à la coupe. Les reins sont gorgés de sang et augmentés de volume. Il existe un petit tubercule dans la médullaire de l'un d'eux. Les surrénales par contre sont peu hémorragiques.

- Au niveau du thorax on constate des suffusions hémorragiques à la surface des poumons, de très fines granulations à la surface de ces organes.

- Au niveau du crâne on trouve 2 volumineux hématomes temporo-pariétaux, le cervelet est complètement infarci. Il existe un épanchement sanglant de la base.

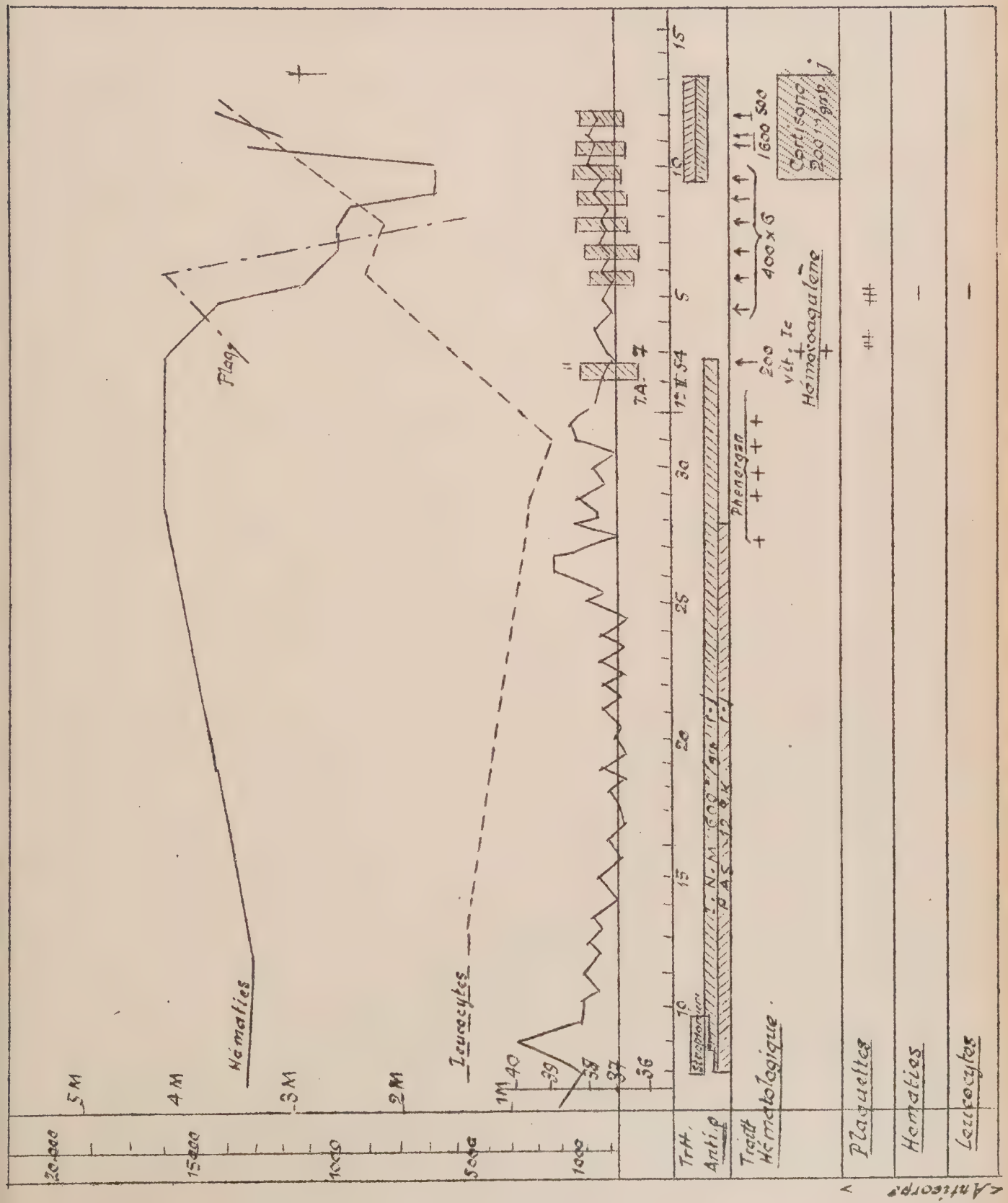
L'étude histologique des différents organes prélevés met en évidence à côté des lésions spécifiques tuberculeuses, une congestion intense de tous les organes : les capillaires viscéraux sont bourrés d'hématies non agglutinées; cette congestion prédomine au niveau des poumons, des reins, du foie et de la rate, mais intéresse aussi les surrénales, le pancréas et le thymus, quoique à un degré moindre.

Au niveau de certains organes existent des foyers hémorragiques assez importantes : poumons, reins, péricarde et coeur. Ailleurs les hémorragies sont plus discrètes ou absentes. Enfin par endroit l'endothélium vasculaire semble détruit. Sur aucun des fragments examinés ne parent être mises en évidence des images de thrombus intravasculaire.

Date	Hématies	V. Gl.	Leuco- cytes	P.N.	P.E.	Pla- quettes	T.S.	Retraction du caillot
12-1-54	3.390.000	0,92	5.600	87 %	0 %	66.000		
28-1-54	4.130.000	0,98	3.200	67 %	9 %			
3-11-54	4.080.000	0,99	5.200	36 %	9 %	66.000	Sup. à 20'	Nulle en 24 heures
4-11-54	3.980.000	0,96						
5-11-54	3.630.000	0,96						
6-11-54	2.970.000	0,94	9.000	58 %	8 %	85.000	+de 20	Nulle en 24h.
7-11-54	2.620.000							
8-11-54	2.590.000	1,01	8.600			20.000		Nulle en 24h.
9-11-54	2.130.000	1,07						
10-av.Tr.	1.580.000	1,16						
ap.Tr.	1.590.000	1,13						
11- 9 h.	3.000.000	1,10						
15h.30	2.900.000	1,13						
12-10 h.	3.450.000	1,15	15.400					
14h.45	3.580.000	1,11						

TABLEAU I - Evolution de la formule et de la crase sanguine chez Fr... Maud

TABEAU II - Schéma évolutif du purpura chez Fr... Maud.



Etude sérologique - le sérum de l'enfant Fr... fut examiné à deux reprises les 2 et 4 Février 1954.

Le 2, il agglutinait fortement (+++) 2 variétés plaquettaires de groupe O, le 4 Février, un nouvel examen montre l'agglutination de 4 nouvelles variétés de plaquettes de donneurs O et A. Les tests furent reproduits sur 25 variétés de plaquettes, 12 de donneurs O et 13 de donneurs A : le sérum donna une agglutination aussi marquée sur toutes les suspensions.

Les caractères de cette agglutinine furent les suivants :

- Thermostabilité : elle ne fut détruite par chauffage du sérum à 60° pendant 15 minutes, mais perd son activité par chauffage à 70° pendant 10 minutes.

- Elle n'est pas adsorbée par le sulfate de baryum,

- Elle agit avec une marge de Ph assez large d'environ 5 à 9,

- Son amplitude thermique est grande puisque les dilutions du sérum testés à 42°, 18° et 37° donnèrent des titres d'agglutination de 1/2 à ces 3 températures.

- Enfin la conservation du sérum à - 20° C. pendant 3 mois n'est accompagnée d'aucune perte de l'activité (mêmes titres d'activité).

Observation II

PURPURA THROMBOPENIQUE AIGU IDIOPATHIQUE D'EVOLUTION RAPIDEMENT MORTELLE.

M. Le... est bien portant jusqu'en 1952. A cette date il accuse un ictère catarrhal, considéré alors comme dû à une "hépatite épidémique". Dans les suites de cet ictère persistent des troubles digestifs qui sont l'occasion d'un examen médical et de la constatation d'une hépatomégalie sans signe d'hypertension portale. De plus, si à dater de ce moment on observe quelques pétéchies cutanées, il n'existe aucun trouble hémorragique. Un traitement à visée hépatique est prescrit et M. LE... mène une vie normale.

Puis en Novembre 1953 apparaissent assez brusquement des oedèmes des membres inférieurs, survenant après la fatigue et prédominant à droite. L'examen confirme alors l'existence d'une hépatomégalie; le foie déborde le rebord costal de 3 travers de doigt et présente une consistance dure; mais il n'existe ni splénomégalie, ni circulation collatérale, ni ascite. Le reste de l'examen est normal. Différents examens complémentaires sont demandés. Une formule sanguine qui donne les résultats suivants : hématies 4.920.000, valeur globulaire 1, hémoglobine 98 %, leucocytes 6.000 dont 52 % sont des polynucléaires neutrophiles, 3,5 eosinophiles, 1,5 % des Basophiles, 36 % des lymphocytes et 7 % des monocytes. au thymol donne un

résultat de 24 unités (avec une technique donnant un chiffre normal de 10 unités), le test de Hanger est négatif et l'élimination de la phénol-sulfone-phtaleine est normale.

On pense alors à la possibilité d'un cancer secondaire, d'autant plus que les radiographies de l'estomac, faites pour rechercher une néoplasie primitive, montre une image suspecte de la petite courbure, pouvant être interprétée comme une lacune à un stade précoce. On prescrit alors un traitement de déchophylline.

Cependant au mois de Janvier les oedèmes régressent; cette amélioration ne persiste d'ailleurs pas et vers la fin du même mois les oedèmes réapparaissent, moins importants il est vrai. Des taches purpuriques plus nombreuses sont aussi constatées, mais il n'existe toujours aucune hémorragie. On prescrit un traitement de 1.000 grammes de vitamine B 12, de théosalvose et de Laroscorbine.

Il s'agit donc d'un adulte suivi régulièrement pour une hépatomégalie postiotérique datant de 2 ans. Aucun antécédant hémorragique ne peut être retrouvé dans les antécédents personnels ni familiaux de ce malade. Or le 15 Février 1954, survient brusquement un syndrome hémorragique grave : celui-ci débute par des hémorragies buccales, puis le 17 survient une épistaxis importante qui fait pratiquer les examens suivants:

Formule sanguine donnant ces résultats : hématies 4.370.000 avec anisocytose, macrocytose, leucocytes 8.600 dont 47 % polynucléaires neutrophiles, 5,5 % éosinophiles, 1,5 % basophiles, 41 % lymphocytes et 5% monocytes. La résistance osmotique décèle une hémolyse initiale à 4,5 et une hémolyse totale à 3,3. La bilirubine totale est au taux de 7 milligrammes p. 1.000.

Les plaquettes sanguines sont au nombre de 43.000, le temps de saignement est de 18 minutes, le temps de coagulation de 18 minutes; la rétraction du caillot se fait mal à 37%. Le taux de prothrombine est de 100 %. La vitesse de sédimentation de 10 à la première heure et 19 à la deuxième heure.

Le traitement suivant est institué : vitamine K, calcium, hépatrol et laroscorbine. Le 20 Février on fait une transfusion de 100 cc. de sang conservé et le 23 une transfusion de 150 cc. de sang frais. Cependant les troubles persistent.

Ainsi le 24 Février on se trouve en présence d'un malade fatigué, présentant des hémorragies profuses qui obligent son admission en clinique. Il existe alors un purpura pétéchial sur tout le corps, des oedèmes peu importants au niveau des membres inférieurs. Le foie déborde le rebord costal de 4 travers de doigt et n'est accompagné d'aucune circulation collatérale, d'aucune ascite, d'aucune augmentation de volume de la rate. Le reste de l'examen est normal.

Un traitement local est tout d'abord institué (méchage avec thrombase), mais sans succès. On pratique une nouvelle transfusion de

250 cc. de sang frais. Ce traitement reste sans résultat. De nouvelles transfusions, un nouveau méchage, l'administration de vitamine C par voie intraveineuse, d'hémocoagulène, de protamine ne donnent pas de meilleurs résultats. On tenté alors une injection intraveineuse de thrombase qui est suivie de l'arrêt des hémorragies. Des injections de thrombase sont renouvelées les jours suivants. Le malade se recoloré, l'état général s'améliore et le chiffre des globules rouges augmente. De plus le 26 Février un traitement cortisonique est associé aux traitements antérieurs.

Le 27 Février survient une hémorragie nasale de petite importance qui est arrêtée facilement. Ainsi dans la soirée l'état général est bon, le malade est bien coloré, parle, a bon appétit et semble en voie de guérison. Or brusquement dans la nuit du 27 au 28 Février apparaissent des céphalées, de l'agitation, quelques troubles neurologiques et la mort survient en quelques heures. L'autopsie n'a pu être faite.

En conclusion, il s'agit d'un malade présentant un syndrome hémorragique d'une extrême gravité. Un fait important est à noter à savoir que les hémorragies n'ont pas influencées par les transfusions. Il semble même que celles-ci aient entraîné à plusieurs reprises une aggravation des troubles. Le 26 Février des examens de la crase sanguine ont été faits, mais leur signification et leur interprétation sont rendues difficiles du fait des injections de thrombase faites depuis la veille.

Hématies	4.920.000	4.370.000	4.260.000
Hémoglobine		87 %	87 %
Val. Glob.		1	1,03
Hematocrite			39
Leucocytes	6.000	8.600	32.400
polyn. N.	52 %	47 %	72 %
polyn. E.	3,5	5,5	0,25
polyn. B.	1,5	1,5	0,25
lymphoc.	36	41	7,5
monocytes	7	5	6
formes jeunes			14
plaquettes		43.000	31.100
T.S.		13 '	4 '
T.C.		18 '	4' - 5'
retraction		+	normale
prothrombine		100 %	

TABEAU III

Formule et crase sanguines de M. Le...

	M. le...	Témoin
Fibrinogène :	2 gr, 25	
Accélélerine :	19" 5	25"
Prothrombine :	14"	17"
Convertine :	17"	27"
Consommation de prothrombine	17"	sup. à 1'
Tolérance à l'héparine 0,3	3'45"	4'45"
0,7	6'30"	8'15"
1 u	10'45"	17'
Temps de Howel	2'15"	
Anticoagulant :	2'15"	2'
	Le. + T.	= 2'

TABEAU IV

Etude de la coagulation le 26-11-54

Etude sérologique : Le sérum de M. Le... fut examiné à deux reprises les 24 et 25 Février 1954.

Le 24 Février, il donna un test fortement positif sur deux variétés de plaquettes et le lendemain à nouveau les tests furent positifs sur 6 variétés de plaquettes. L'agglutinine décelée était présente dans le plasma et le sérum du malade et présentait les caractères suivants :

- thermostable (elle ne fut pas détruite par chauffage à 56° pendant 30 minutes),
- non adsorbable par le sulfate de baryum;
- agissant avec une grande marge de Ph (entre 5 et 9)
- d'amplitude thermique grande puisque les tiges d'agglutination sont identiques à 4°, 18° et 37° (1/2). Les variations de Ph donne les mêmes résultats à ces 3 températures.

La conservation du sérum à - 20° pendant 3 mois entraine une légère diminution de la force de l'agglutination (+ au lieu de ++) mais les titres d'activité sont les mêmes avec le sérum frais et conservé à cette température.

Observation III

PURPURA THROMBOPENIQUE D'EVOLUTION CHRONIQUE TRAITE
PAR CORTISONE PUIS PAR SPLENECTOMIE

Enfant Du... Chantal, 14 ans. Les premiers troubles hémorragiques remontent à Mai 1950, date à laquelle l'enfant présente des gingivorragies, des épistaxis et des ecchymoses importantes. Le temps de coagulation est à cette date de 7 minutes, le caillot est irrétractile. Ni le temps de saignement, ni le nombre des plaquettes ne sont connus. Enfin il existait une anémie à 3.780.000 et une leucocytose de 8.800.

Puis l'évolution est capricieuse, mais il semble qu'il y eut toujours quelques taches purpuriques et que s'il n'existait pas d'ecchymoses spontanées, celles-ci apparaissaient au moindre choc. En 1952, les troubles présentent une nouvelle recrudescence. Une numération donne alors les résultats suivants : hématies 4.330.000, leucocytes 11.000. Le temps de saignement est de 10 minutes, le temps de coagulation de 19 minutes, la rétraction du caillot est nulle. Surtout pour la première fois une numération des plaquettes est pratiquée; celles-ci sont peu nombreuses (28.000) et plus grosses que normalement.

La période hémorragique actuelle remonte au mois d'Août 1953. Le 28 Août, melle Du... est réglée pour la première fois. Elle présente des hémorragies de sang rouge, abondantes et contenant de nombreux caillots. Ces hémorragies durèrent 17 jours, pendant lesquels la température monta à 39° pour revenir à la normale lors de l'arrêt des hémorragies.

Le 29 Septembre, de nouvelles hémorragies surviennent aussi abondantes que les premières et qui durent une dizaine de jours. Dans les premiers jours il y eut quelques vomissements bilieux et la température atteint 38°4. L'enfant est alors hospitalisée à l'hôpital de Tours : elle présente une pâleur très marquée de nombreuses ecchymoses, prédominant aux membres inférieurs et un purpura pétéchial au niveau de l'abdomen et de la racine des cuisses. La rate, le foie, les aires ganglionnaires sont normales. Les examens faits donnèrent ces résultats : hématie : 2.360.000 (anisocytose importante). Taux d'hémoglobine : 35 %. Plaquettes 216.000 de morphologie toujours anormale. Le temps de saignement est de 14 minutes mais la rétraction du caillot est faible. Le taux de prothrombine est de 100 % et la cutiréaction à la tuberculine est positive.

On fait à cette date une première transfusion de 500 cc.. Le 8 Octobre, soit 10 jours après le début de cette 2ème période menstruelle, l'enfant ne saigne plus. Du fait de sa pâleur, on fait cependant une nouvelles transfusion de 500 cc. L'enfant se recoloré, la température est normale, la tension artérielle est de 12-5. La formule sanguine donne les résultats suivants : hématies 2.040.000 avec 40 % d'hémoglobine, leucocytes 6.200. Le nombre des plaquettes n'est pas noté. On fait également une ponction sternale qui objective une inversion du rapport existant entre les éléments de la lignée myéloïde et érythrocytaires. Le nombre ni l'état des mégacaryocytes ne sont notés.

Le 22 Octobre, l'enfant va bien. On fait au 18^e, 20^e et 22^e jours du cycle une injection de testostérone-progestérone. La numération sanguine compte alors 4.000.000 d'hématies et 9.000 leucocytes. Le taux de prothrombine est de 100 %. Mais le 2 Novembre, Melle Du... est réhospitalisée car dès son retour chez elle, les ménorragies ont repris. Les résultats des examens donnent des résultats analogues aux précédents (Cf. tableau). On fait une transfusion de 500 cc. qui fait diminuer les hémorragies sans les faire cesser totalement. De nouvelles transfusions sont faites les 6 et 8 Novembre. Le 15, les ménorragies cessent. Un traitement anti-anémique est prescrit jusqu'au 24.

Le 7 Décembre, débute la 4^e période menstruelle : saignements abondants avec caillots et dont le volume augmente les jours suivants. On doit faire de nouvelles transfusions auxquelles sont adjoint un traitement de benzogynœsteryl (1 milligramme) sans effet. Le 18, les hémorragies persistent, le taux des hématies est de 3.140.000 avec 60% d'hémoglobine. Les plaquettes sont au nombre de 129.000. On injecte alors 2 ampoules d'adrénoxyl et 5 unités de posthypophyse qui stoppent les hémorragies.

Il s'agit donc dans ce cas d'une maladie de Werlhof avec une thrombopénie pas très importante et surtout des ménorragies très importantes faisant baisser le taux des hématies de plusieurs millions à chaque période menstruelle et obligeant à faire des transfusions répétées. Or il n'existe aucun antécédant familial. Les 4 soeurs de la malade ne présente aucun trouble hémorragique, la mère elle-même est normale : elle a un temps de saignement de 3 minutes, le temps de coagulation est de 11 minutes dans le premier tube, 15 minutes dans le second. La rétraction du caillot est totale après séjour de 3 heures à 37°. Enfin, les antécédents personnels ne permettent de reconnaître aucune cause à ce syndrome hémorragique.

Melle Du... est hospitalisée à la clinique des enfants malades au début de Janvier 1954. Lors de l'examen d'entrée, on constate une pâleur marquée, avec décoloration des conjonctives. Il n'existe pas de pigmentation, pas de dyspnée. Au niveau du dos et des lombes existent quelques taches hémorragiques spontanées, au niveau des membres inférieurs existent quelques pétécchies. Le signe du lacet (recherchée au moyen d'un brassard gonflé à 10 m/m de mercure) est positif dès la première minute.

Les hémorragies ont repris le 29 Décembre et continuent le 2 Janvier. Il n'y a pas d'autres hémorragies, le foie, la rate et les aires ganglionnaires sont normaux. Le reste de l'examen est normal. Le 4 Janvier, les examens complémentaires donnent les résultats suivants :

- groupe A, CcDe, M, Fy^a-.

- Formule sanguine : H. 3.510.000, leucocytes 5.800 dont 60% de polynucléaires neutrophyles, 3 % éosinophiles, 1 % basophiles, 19 % de lymphocytes et de 12 % de monocytes. Les plaquettes sont au nombre de 61.000, le temps de saignement est de 20 minutes. La mesure de la résistance capillaire à la ventouse perçoit les premières pétécchies à 15 centimètres de mercure. Le temps de coagulation est de 9 minutes dans le

premier tube, 12 dans le second. La rétraction du caillot est nulle en 24 heures. Le taux de prothrombine est de 100 %.

- Les tests immunologiques mettent en évidence une thromboagglutinine.

- La radiographie pulmonaire est normale.

Le 12 Janvier, les ménorragies persistent, peu abondantes, la température est à 38°, 38°5, et on doit faire des transfusions. Le 14, alors que la malade a déjà reçu, depuis le début de sa maladie, une dizaine de transfusions, l'existence d'une thromboagglutinine est confirmée. Par contre on ne peut déceler aucune agglutinine irrégulière antiérythrocytaire, ni antileucocytaire.

Le 16 Janvier, les hémorragies ont cessé, la malade reçoit encore une transfusion. D'ailleurs l'anémie se répare vite, la thrombocytose remonte à 100.000, mais la rétraction du caillot reste nulle après séjour du caillot à 37° pendant 24 heures, le temps de saignement demeure anormalement long.

L'état clinique reste bon, malgré l'apparition de quelques taches échyмотiques sur le bord marginal de la langue et sur la face interne de la joue le 31 Janvier. Le 14 Février, les ménorragies réapparaissent, présentant les caractères qu'elles ont eu jusqu'alors. Un traitement cortisonique est institué le 23 Février alors qu'elles commencent à diminuer. Les hémorragies cessent le 26. Aucune transfusion n'a été faite pendant cette période, le nombre des hématies s'étant maintenu aux environs de 3.500.000. Le 10 Mars, le traitement hormonal peut être interrompu, il n'y a aucune hémorragie ni cutanée, ni muqueuse depuis le 23 Février.

Cependant, une nouvelle poussée purpurique survient, le 16 Mars : il s'agit d'un purpura pétecchial, prédominant aux membres inférieurs, par endroits, les éléments se groupant en foyers concentriques. La thrombocytose est de 90.000, le temps de saignement est de 18 minutes. Puis le 30 Mars, alors que cette éruption est atténuée les règles surviennent : il s'agit pendant quelques jours de saignement peu importants et intermittents. Les hémorragies abondantes ne surviennent que 5 jours plus tard et ne dureront que 5 à 6 jours.

Ainsi, cette période menstruelle s'est accompagné d'hémorragies moins graves que les précédentes. Cependant, du fait de la persistance des troubles et dans la crainte d'une nouvelle poussée plus grave, une splénectomie est décidée. Afin d'augmenter le nombre des plaquettes et de faire diminuer le temps de saignement, une transfusion de plaquettes est faite la veille de l'intervention.

Cette transfusion fut faite par le Docteur MAUPIN. Le culot plaquettaire fut obtenu par la technique décrite par lui (52), à partir du sang de 12 donneurs A Rh+ recueilli sur citrate et dans des flacons siliconés. Il put injecter ainsi un culot de 24 grammes contenant 13.200.000 plaquettes au millimètre cube et recueilli sur 10 grammes de séquestrène. Le nombre total de plaquettes injecté fut à peu près de

13.200.000 piastres en millions de piastres et le nombre total de piastres injecté fut à peu près de 13.200.000.

Le nombre total de piastres injecté fut à peu près de 13.200.000.

400 milliards. Le culot plaquettaire fut resuspendu dans 100 cc. de sérum physiologique et injecté environ 4 heures après la récolte du sang original. La transfusion fut faite sans ennui et bien supportée. Le temps de saignement qui était de plus de 18 minutes avant l'injection tombe à 3 minutes quelques instants après alors que les plaquettes montèrent de 75.000 à 140.000. Cependant, les résultats obtenus ne durèrent pas puisque le lendemain matin, moins de 24 heures après l'injection, le temps de saignement est à nouveau supérieur à 18 minutes et que les plaquettes sont au nombre de 91.000. La splénectomie empêcha d'étudier le temps nécessaire au retour de la thrombocytose à son taux initial.

La splénectomie fut faite en effet le 16 Avril 1954, en voici le compte rendu : "médiane sous ombilicale prolongée en transversale gauche, par section du grand droit. Rate nettement augmentée de volume, assez adhérente au péritoine pariétale postérieur, ligaments spléniques courts. Splénectomie sans difficulté par ligature dernière du pédicule. Dans les hiles quelques masses rougeâtres qui sont des ganglions et des rates surnuméraires sont enlevées et il n'existe pas d'autres rates surnuméraires dans les territoires explorés. Fermeture de l'arrière cavité. Un drain est placé dans la loge splénique par contincision lombaire. Reconstitution du grand droit au nylon. Fermeture de la médiane sur un plan de péritoine et un plan aponévrotique au nylon".

L'intervention est bien supportée. Elle est suivie d'une augmentation importante des plaquettes à 170.000 dans les heures qui suivent, à 200.000 le lendemain pour se maintenir par la suite aux environs de 300.000. Parallèlement le temps de saignement diminue à 3 minutes et la rétraction du caillot devient normale.

Au point de vue clinique, il n'existe depuis l'intervention aucune hémorragie anormale. Quelques jours après cette intervention il y eut quelques hémorragies utérines de faible abondance ayant duré seulement 48 heures. Cependant les suites opératoires furent troublées par des accidents infectieux au niveau des veines ayant servi à l'injection de sérum au cours de l'intervention, ces accidents expliquent l'hyperleucocytose observée. La température ne redevint ainsi normale que vers le 15^e jour de la période post-opératoire.

voir TABLEAU V page suivante

../..

Dates	Hématies	V. Gl.	Leuco- cutes	P.N.	E.	B.	L.	M.
4-I-54	3.510.000	0,82	5.800	60	3	1	24	12
9-I-54	2.800.000	0,92	6.000	69	5	1	15	10
16-I-54	2.370.000	0,90	5.400	55	3	1	29	12
25-I-54	4.710.000	0,92	4.600	63	4	1	24	8
29-I-54	4.730.000							
16-II-54	3.820.000	0,97	7.400	64	4	0	26	6
23-II-54	3.390.000	0,81	8.800	72	1	1	15	11
1-III-54	3.520.000	0,79	13.800	72	2	0	23	3
5-III-54	3.300.000	0,80	11.200	67	0	1	27	5
11-III-54	4.250.000	0,73	6.600	52	1	0	32	14
24-III-54	4.250.000	0,80	3.600	60	4	0	27	9
7-IV -54	4.290.000	0,75	6.600	72	4	0	15	8
14-IV-54	3.730.000		4.600	71	0	0	15	8
15-IV-54	3.650.000		5.000	67	3	0	24	3
16-IV-54 M.	3.560.000		5.400					
S.	4.080.000		20.000					
17-IV-54	4.110.000		30.000	88	0	0	8	4
19-IV-54	4.300.000	0,81	10.400	65	4	0	13	18
20-IV-54	4.050.000		13.600	64	5	0	9	32
21-IV-54	4.140.000		45.200	96	0	1	1	2
23-IV-54	4.220.000		21.600	81	1	0	6	12
24-IV-54	4.300.000		15.000	69	1	0	17	13
26-IV-54	3.960.000		16.800	75	4	0	13	8
3- V-54	3.880.000		10.200	67	3	1	17	12

TABLEAU V

Evolution de la formule sanguine chez Du...

Etude sérologique - le sérum de cette malade fut testé à 6 reprises différentes avec les résultats suivants :

Le 6 Janvier, on décèle une agglutinine active sur toutes les suspensions plaquettaires ayant servi aux tests. La force de l'agglutination était de ++++ avec notre technique habituelle. Elle était beaucoup plus faible avec la technique utilisée par STEFANINI. Le 12 Janvier, l'existence de cette thrombo-agglutinine fut confirmée et ses caractères étudiés:

- Présente dans le plasma et le sérum de la malade
- Thermostable
- Non-absorbable par le sulfate de baryum,
- agissant mieux aux Ph basiques qu'acides,
- D'amplitude thermique grande puisqu'active à 42°, 182° et 372° à des dilutions de 1/4 en milieu salin.
- Résistant au stockage à - 202° pendant 3 mois.

De plus le sérum de Melle Du... put être testé contre 52 variétés de plaquettes différentes dont 20 appartenaient à des donneurs de groupe A, 24 à des donneurs de groupe O, 5 à des donneurs de groupe B et 3 à des donneurs de groupe AB. Toutes ces suspensions plaquettaires furent agglutinées avec des positivités de ++ à +++++. Enfin l'échantillon de sérum prélevé en Janvier fut testé après l'intervention contre les plaquettes de la malade qui furent agglutinées même par un sérum dilué en milieu salin au 1/4 pour les tests faits à 42 et au 1/2 pour les tests faits à 18 et 372.

Dates	Plaquettes	T.S.	T.C.	Rétraction : du caillot	Tests immunologiques		
					plaquettes	hématies	leucocytes
4-I-54	61.000	+ de 20'	9-12'	= 0 en 24h.	++	-	-
29-I-54	104.000	+ 18'	9-11	= 0 en 24h.			
17-II	48.000	+ 18'	11-13	= 0 en 24h.			
23-II		+ 18'			+		-
I-III	104.000	+ 19'	9-11	faible			
15-III	108.000	23'	9-13	faible	+ 1/4	-	+
24-III	90.000	18'	13-15	= 0 en 24h.			
24-III	76.000						
14-IV	78.000						
15-IV	75.000				n + 1		+
16-IV M.	91.000	+ 18'					
S.	170.000	3'		assez bonne bonne en 3h			
17-IV	200.000						
20-IV	300.000						
21-IV	170.000						
23-IV	272.000						
24-IV	290.000	3'		normale	+	-	++
26-IV	280.000						
3-V	280.000						

TABLEAU VI

Evolution de la crase sanguine et des anticorps chez Du...

Les tests furent refaits au cours de l'évolution de la thrombopathie : le 24 Février 4 nouvelles variétés plaquettaires furent agglutinées par le sérum frais et inactivé, par le plasma frais et le plasma chauffé à 562 pendant 30 minutes puis centrifugé. Le 16 Mars l'agglutinine était active au taux de 1/4 à 4 et 182. On put alors faire une absorption sur plaquettes après 3 passages du sérum sur les culots plaquettaires différents, le pouvoir agglutinant de ce sérum fut absorbé en totalité.

Le 14 Avril, 48 heures avant l'intervention, les test étaient encore positifs, mais à un taux plus faible, puisque seul le sérum pur est capable de produire l'agglutination.

Enfin, après l'intervention, le 27 Avril les tests furent trouvés négatifs. Un test de Coombs plaquettaire fut alors possible et il fut lui aussi négatif.

Tests erythrocytaires et leucocytaires -

Il faut enfin noter que la recherche d'agglutinines actives contre les hématies et les leucocytes fut effectuée en même temps que les tests plaquettaires.

Les tests erythrocytaires furent effectués sur le sérum et les hématies à 3 reprises et furent trouvés négatifs. L'existence d'isoanti-corps immuns, secondaires aux transfusions multiples furent également recherchée sur plusieurs variétés d'hématies de groupe défini, en milieu salin et albumineux et par test de Coombs indirect. Ces recherches donnèrent des résultats négatifs.

Par contre les tests leucocytaires négatifs en Janvier donnèrent des résultats douteux en Mars puis franchement positifs en avril avant et après la plénectomie.

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION SEROLOGIQUE

Dans ces 3 cas de purpura thrombopénique, nous avons pu mettre en évidence un facteur d'agglutination plaquettaire. Nous décrirons les techniques exactes qui furent utilisées et permirent de déceler ces facteurs, d'en étudier les principaux caractères. La validité des tests et la signification des facteurs décelés seront ensuite discutées.

TECHNIQUE D'ETUDE

I^a- Test d'agglutination :

Au cours d'études préliminaires, nous avons utilisé une méthode proche de celle de STEFANINI, consistant à faire incuber à 42° C. une préparation contenant le sérum inactivé à tester et une suspension plaquettaire. Le contact était prolongé pendant une heure et demi, la lecture faite sur lame, au microscope avec un grossissement d'environ 200 fois. Cependant les résultats obtenus étaient peu précis et c'est pourquoi nous avons tenté de sensibiliser le test par agitation. Voici quelle fut la technique utilisée (44).

Préparation de la réaction -

Le sérum du malade est séparé après coagulation complète du sang à la température du laboratoire. Puis il est centrifugé de telle sorte que n'y reste aucun élément cellulaire. Il est ensuite inactivé par chauffage au bain-marie à 56° pendant 30 minutes.

Les suspensions plaquettaires sont préparées à partir de sang de donneurs compatibles dans le système ABO, avec les sérums à tester. Lors du prélèvement les premières gouttes de sang sont rejetées, puis le sang est recueilli sur une solution de Séquestrène Na₂ à 5 % en milieu salin (solution de ClNa à 9 p. l.000 et à raison de 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang). Cet anticoagulant fut choisi de préférence

au citrate de sodium, au oxalate et à l'héparine, car il est bien établi que c'est lui qui permet la meilleure conservation des plaquettes. Pour la même raison, le sang est prélevé dans des tubes siliconés. Le mélange du sang et de l'anticoagulant est assuré en retournant le tube 2 à 3 fois.

Puis il est centrifugé à environ 3.000 tours-minute pendant 2 minutes et un examen microscopique est effectué pour vérifier l'absence d'agglutination plaquettaire (ceux-ci devraient faire rejeter la préparation) et l'absence de globules blancs et rouges (leur présence devrait faire effectuer une nouvelle centrifugation). On doit obtenir une suspension finale de 300.000 plaquettes environ au millimètre cube, les suspensions trop riches n'étant pas agglutinées par des sérums à faible pouvoir agglutinant.

La réaction proprement dite -

Les tests lui-même utilise l'agitateur et les plaques à godets de Kline. Dans chaque godet on place deux gouttes de sérum à tester et une goutte de la suspension plaquettaire. Puis les plaques sont placées sur l'agitateur et agitées pendant 30 minutes à la température du laboratoire par un mouvement circulaire à raison de 100 à 120 révolutions par minute.

La lecture est faite au microscope avec un grossissement d'environ 200. Le test est négatif lorsque les plaquettes apparaissent nettement séparées les unes des autres. Il est au contraire considéré comme positif lorsqu'elles apparaissent sous forme d'amas de 10 à 20 plaquettes chacun, donnant à la préparation un aspect granuleux, réparti sur toute la préparation et semblable à l'aspect d'un test de Coombs positif (compte tenu de la différence existant au point de vue morphologique entre les plaquettes et les hématies). L'intensité de la réaction est noté de + à ++++.

Des réactions témoins doivent être faites, utilisant des sérums préalablement testés. Ils ont subi le même traitement que les sérums des malades (centrifugation et inactivation). En pratique nous utilisons 3 témoins négatifs et un témoins positif pour chaque série de réactions.

Tests sur plaquettes lavées -

Nous avons fait de nombreux essais utilisant comme antigène une suspension de plaquettes lavées. Mais les résultats obtenus ne furent pas satisfaisants. Au cours du lavage les plaquettes risquent de s'agglutiner et il est alors rare que les témoins soient parfaitement négatifs. Dans d'autres cas les plaquettes semblent avoir été abimées par le lavage et aucun sérum ne les agglutinine.

29 - Variations des conditions d'expériences :

Pour étudier les caractères sérologiques des agglutinines décelées, nous avons fait varier les conditions de la réaction de la façon suivante :

Variations de Ph -

Elles sont assurées par acidification ou alcalinication du sérum au 1/10 au moyen d'acide chlorhydrique ou de soude en solution N/10, N/5 et N/2. Pour l'acidification Harrington recommande l'acide citrique qui donnerait moins lieu à de fausses réactions que l'acide chlorhydrique : nous n'avons trouvé aucun avantage à son utilisation.

Amplitude thermique -

Pour étudier l'amplitude thermique des agglutinines, les réactions furent faites à 49°, 37° et à la température du laboratoire, l'agitation étant faite à ces températures. Dans quelques cas des dilutions des sérums furent faites et testées à ces températures.

Résistance des agglutinines au chauffage -

Les sérums furent testés sur la même plaque à l'état frais, après chauffage à 56° pendant 30 minutes, chauffage à 60° pendant 15 minutes et chauffage à 70° pendant 10 minutes. Il convient de remarquer que les sérums coagulent normalement à 70°; pour éviter cet accueil on doit avant chauffage diluer les sérums au 1/2 en milieu salin. C'est dire que les résultats obtenus n'ont de valeur que si la comparaison des pouvoirs agglutinants est faite non pas avec un sérum pur, mais un sérum dilué au 1/2.

Déprothrombinisation -

Les sérums furent également adsorbés sur sulfate de baryum selon la technique de R. ROSENFELD et M.S. TUFT (53) afin d'en éliminer la prothrombine. Cette technique consiste à mettre en contact pendant 20 minutes une partie de sulfate de baryum et 9 parties de sérum. Le mélange doit être agité constamment. Une centrifugation à 4.000 tours-minute pendant 5 minutes termine la manipulation. Les tests sont ensuite faits avec le sérum ainsi traité et selon la technique habituelle.

Dilutions -

Des dilutions de chacun des sérums furent faites en milieu salin et en milieu albumineux : aucune différence de titre fut observé entre les deux méthodes, aussi les dilutions sont elles faites habituellement en milieu salin.

Fractionnement et absorption -

Enfin nous avons fait fractionner les sérums, les fractions étant ensuite utilisées de la même façon que les sérums. Les absorptions sur plaquettes furent faites de la façon suivante : des culots plaquettaires sont préparés à partir de sang prélevé sur séquestrène et dans des flacons siliconés. Puis les plaquettes sont lavées 3 fois et réparties en culot d'égale importance. L'absorption a été faite à 49° C. (elle peut aussi être faite à 37°, mais le temps nécessaire à l'absorption risque être la cause

d'altérations plaquettaires ou d'infection des sérums). 3 passages successifs sont ainsi faits sur des culots plaquettaires différents. Le premier passage est prolongé pendant environ 16 heures, les deux autres pendant chacun 2 heures. Entre chaque passage le sérum est centrifugé à 4.000 tours pendant 15 minutes.

39 - Le test de Coombs plaquettaires :

Le test de Coombs plaquettaires se fait sur des plaquettes lavées. Pour éviter l'agglutination des plaquettes au cours du lavage, certaines précautions doivent être prises. En effet, 4 facteurs interviennent dans la prévention de cette agglutination : la concentration en anticoagulants, la force de la centrifugation, la température à laquelle sont faites les centrifugations et l'état des parois des tubes contenant les plaquettes.

Ainsi nous avons été amené à opérer de la façon suivante : la suspension plaquettaire utilisée est obtenue de la même façon que celle survenant aux tests d'agglutination, toutes les opérations sont faites en tubes siliconés. Une première centrifugation est pratiquée à 49 pendant 30 minutes à une vitesse de 1.100 tours-minutes. Puis le plasma surnageant est rejeté et le culot plaquettaire resuspendu dans une solution de sequestrène à 5 pour 1.000 en milieu salin. Trois centrifugations sont faites chacune à 49 et suivies de la resuspension du culot plaquettaire dans une solution anticoagulante fraîche. Le culot final est enfin mis en suspension dans un milieu salin (ClNa à 9 p. 1.000) de telle sorte que la suspension obtenue contienne environ 300.000 plaquettes au millimètre cube.

Le test de Coombs lui-même est alors fait de la façon suivante : l'antiglobuline est diluée à deux taux différents de façon à éviter une fausse négativité par phénomène de prozone. Puis dans chaque godet on place 2 gouttes de la solution d'antiglobuline et une goutte de la suspension plaquettaire. La lecture est faite après agitation des plaques pendant 30 minutes.

Des témoins de la suspension plaquettaire sont faits, l'antiglobuline étant remplacée par du sérum physiologique. Des témoins sont également faits avec des plaquettes de sujets normaux.

49 - La lyse des plaquettes :

La lyse plaquettaire a été étudiée par une méthode directe étudiant la clarification d'un plasma riche en plaquettes sous l'action du sérum des malades. Les numérations plaquettaires nous ont paru en effet insuffisamment précise, d'autant plus que des agglutinations peuvent fausser les mesures.

52 - Inhibition de la rétraction d'un caillot normal :

Enfin, la rétraction d'un caillot plasmatique en présence des sérums des malades fut étudiée, comparativement à celle d'un caillot analogue en présence de sérum normal. Nous avons préféré l'utilisation des caillots plasmatiques à celle des caillots sanguins, comme étant plus précise. La technique employée fut, à cela près, celle décrite par J.F. ACKROYD (54).

CRITIQUE DES RESULTATS OBTENUS

12 - Propriétés physico-chimiques des agglutinines :

Les agglutinines décelées dans nos 3 cas possèdent des caractères analogues à ceux déjà reconnus aux agglutinines par J. DAUSSET et M. STEFANINI qui seuls donnent des détails à ce sujet :

Caractères sérologiques	cas de J. DAUSSET	Cas de M. STEFANINI
Titre	1/64	1/512 à 1/2048
Thermostabilité	Activité conservée	Activité conservée
562 pendant 30'		
622 pendant 15'	Diminution faible	Diminution forte
702 pendant 10'	Inhibition presque totale	Inhibition totale
Action du Ph	Pas de variations entre Ph 6,85 à 9,2	Pas de variations entre Ph 5 et 9
Amplitude thermique à 42 C.	+++	+++
à 18 et 372	++	?
Absorptions sur plaquettes sur hématies		Diminution à chaque passage Diminution faible

TABLEAU VIII

Caractères sérologiques des thromboagglutinines

- Activité à 42, 182 et 372,
- Présence dans le plasma et le sérum des malades,
- Thermostabilité, puisque détruite seulement à 702,
- Activité avec une marge de Ph très large,
- Adsorption impossible sur sulfate de baryum,
- Résistance au stockage à -202 pendant 3 mois,
- Absorption possible sur plaquettes humaines (Du...),
- Présence dans les fractions gamma-globuliniques.

Par contre nous ne pûmes mettre en évidence de facteurs lytique dans aucun de ces 3 sérums. La rétraction d'un caillot normale ne fut inhibé par aucun d'entre eux.

Ainsi l'assimilations des facteurs décellés aux anticorps anti-plaquettaires semble justifiée. Un nouvel argument en faveur de cette hypothèse est apporté par les résultats de la transfusion de plaquettes faite chez Du... le 15 Avril.

2^e - Les effets des transfusions plaquettaires

On a vu en effet que la transfusion de 400 milliards de plaquettes avait permis un retour à la normale du temps de saignement, une remontée plaquettaire de 65.000 plaquettes au millimètre cube. Or ces résultats n'ont pas persisté puisque le temps de saignement était revenu le lendemain matin à plus de 17 minutes, que le nombre des plaquettes avait baissé de 50.000. A titre de comparaison nous rapporterons une courbe obtenue chez un enfant présentant un purpura thrombopénique et chez lequel aucune agglutination ne pût être mise en évidence.

L'enfant V..., 12 mois, est hospitalisé pour un purpura thrombopénique aigu. Il présente de nombreuses pétéchies et échymoses, quelques hémorragies. Les plaquettes sont au nombre de 50.000, le temps de saignement est très allongé, la moelle sternale est pauvre en mégécaryocytes. En fin Novembre 1953, les tests immunologiques furent négatifs. Le 7 Janvier 1954, une première transfusion plaquettaire est faite.

Le culot plaquettaire contient 7.340.000 plaquettes, et on injecte un total de 350 milliards de plaquettes. La thrombocytose monte alors de 70.000 à 280.000 alors que le temps de saignement passe de 12 minutes avant la transfusion à 2 minutes après celle-ci. Surtout la courbe évolutive de la thrombocytose et du temps de saignement est très différente de celle de Du... (Cf. Tableaux IX et X). En effet alors que la thrombocytose est de 240.000 le 9 Janvier, 150.000 le 12, 63.000 le 14 et ne retombe à son niveau antérieur que le 16. Le temps de saignement suit une courbe à peu près analogue puisqu'il est de 5 minutes encore le 11 et de 10 minutes le 12.

On peut donc conclure que le bénéfice de cette transfusion s'est fait sentir pendant environ 5 à 7 jours. Chez Du..., au contraire, dès le lendemain, l'effet était à peu près épuisé. De nouvelles transfusions purent être faites chez V... avec des résultats semblables aux premiers : les tests immunologiques ne purent jamais mettre en évidence d'agglutinines antiplaquettaires.

De plus, il est à noter que chez Du... la transfusion fut très bien tolérée. Le lendemain la thrombocytose restait à un niveau légèrement supérieur au niveau initial. Or Harrington montre que dans certains cas de purpura thrombopénique toutes les plaquettes ont disparu en quelques heures. Cette discordance semble pouvoir être expliquée par le taux faible des anticorps existant à cette période. Il faut enfin noter que l'on n'observe pas d'augmentation des anticorps après cette transfusion.

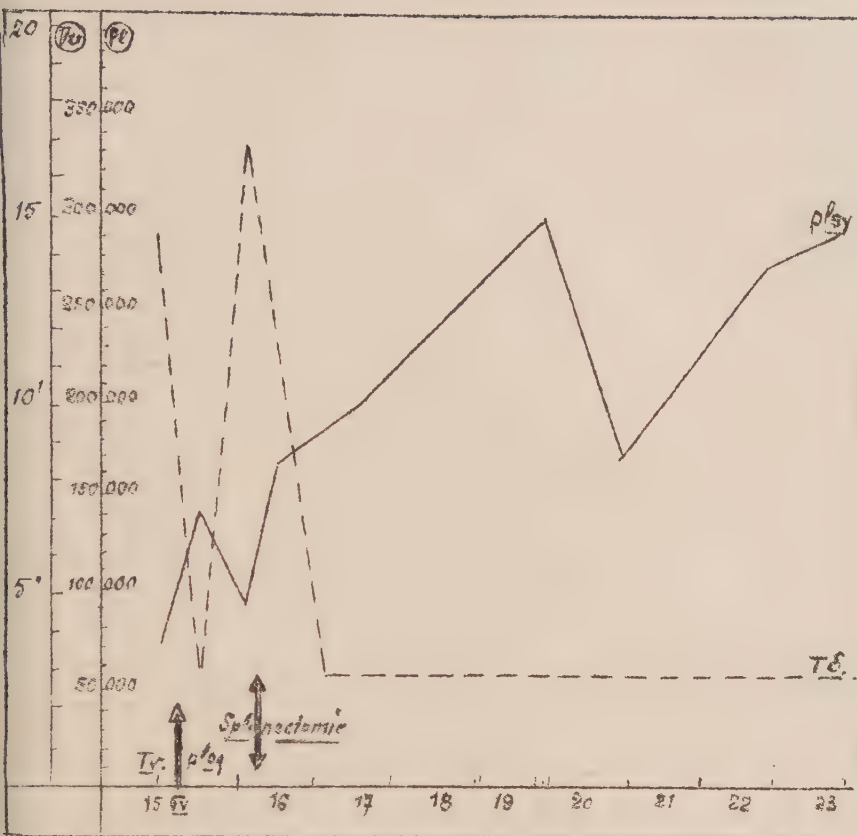


TABLEAU IX

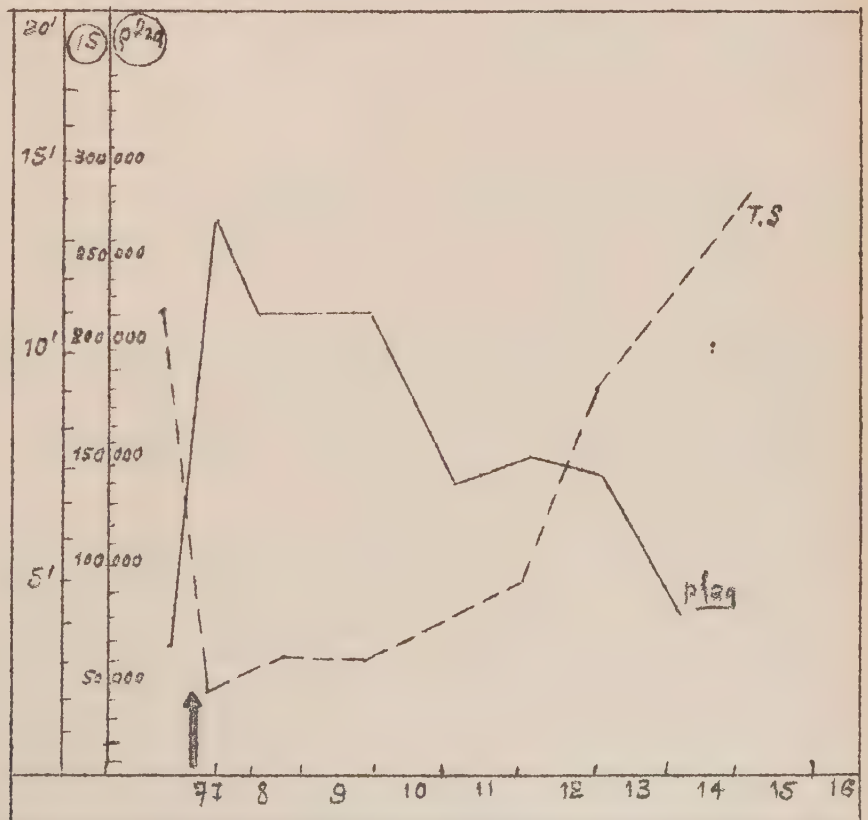
Du...

Transfusion plaquettaire
puis splénectomie.

TABLEAU X

V...

Purpura thrombopénique
sans thromboagglutinine.
Effet des transfusions
de plaquettes.



Etude statistique des tests effectués

Nous avons effectué des tests d'agglutination dans de nombreux cas d'hémopathies et chez quelques sujets présentant des troubles n'intéressant pas le système hémapoïétique. Des tests furent également fait chez un certain nombre de sujets normaux. Dans tous les cas, plusieurs suspensions plaquettaires différentes furent utilisées et des témoins positifs et négatifs permirent l'appréciation des résultats. Enfin, les tests furent renouvelés au cours de la maladie qui avait occasionné le premier examen.

Pour faciliter la comparaison, nous exposerons les cas au cours desquels existait une thrombopénie marquée, les hémopathies non thrombopéniques, les hémopathies malignes. Enfin les résultats obtenus au cours de maladies diverses et chez les sujets normaux seront exposés et discutés.

I - Au cours des thrombopénies :

1^{re} - Sur 20 cas de Purpura thrombopéniques aigus testés, 2 (Fr... et Le...) donnèrent des résultats positifs. Parmi les cas négatifs, il y eut 9 enfants et 9 adultes. La thrombopénie était inférieure à 100.000 dans 11 cas. L'état de la moelle osseuse ne fut connu que dans 4 cas : 2 moelles étaient riches en mégacaryocytes, 2 n'en présentaient que très peu.

2^{de} - Au cours de 10 cas de purpura thrombopénique chronique, les tests furent trouvés positifs dans 2 cas (Du... et un autre cas où existait une polyagglutinabilité des hématies). La thrombopénie était lors de l'examen à des taux variant de 50.000 à 150.000.

3^{de} - Dans 16 cas de pancytopénie, les tests furent trouvés négatifs de même que les tests antihématies et antileucocytes. Ils furent également négatifs dans 17 cas de pancytopénie où seuls les tests antileucocytaires étaient positifs.

4^{de} - 2 anémies hémolytiques acquises à auto-anticorps chauds présentèrent une thromboagglutinine. Dans un cas, un purpura thrombopénique avait été le premier accident clinique, dans l'autre existait également une leucopénie et une thrombopénie : les tests furent trouvés positifs contre les 3 lignées cellulaires : des études immunologiques permirent de les dissocier.

5^{de} - 1 cas de lupus érythémateux disséminé avec hémorragies et thrombopénie donna des tests positifs.

6^{de} - Enfin, dans 11 cas de thrombopénie à propos desquels nous n'avons eu aucun renseignement clinique, les tests furent également négatifs.

TESTS TROUVES POSITIFS 11 cas	TESTS TROUVES NEGATIFS		
	70 Thrombopénies	59 Hémopathies non thrombopéniques	24 Hémopathies malignes
2 purpuras aigus thrombopéniques.	18 purpuras aigus thrombopéniques.		
2 purpuras chron. thrombopéniques.	8 purpuras chron. thrombopéniques.		
2 anémies splé- niques.	16 pancytopénies. 17 Pancytopénies + Leuco-agglut.	17 leucopénies + anémie mais sans leuco-agglut.	
		2 anémies hémoly- tiques congénitales.	
2 anémies hémoly- tiques acquises.		8 anémies hémoly- tiques acquises.	
		22 anémies d'étiolo- gies variées.	
		2 polyglobulies.	
2 lupus érythéma- teux disséminés.		4 lupus érythémateux disséminés.	
		2 purpuras rhuma- thoïdes.	
	11 cas. Diagnostic exact ignoré.		
			LEUCOSES - 8 L. aigues, 4 L. lymphoïdes 1 L. à mono- cytes. 9 Mal. Hodgkin. 1 Mal. de Kallher 1 Lymphosar- come.
1 réticulose maligne			

TABLEAU XI

Tests pratiqués au cours des hémopathies

II - Au cours des hémopathies non thrombopéniques :

Les tests furent faits dans 60 cas d'hémopathies ne présentant lors de l'examen aucune thrombopénie : ils furent positifs dans 3 cas :

- un cas de lupus érythémateux disséminé présentant un syndrome néphrotique grave,
- et 2 cas d'anémies. Celles-ci étaient survenues chez des sujets d'Afrique du Nord à antécédents parasitaires multiples. Elles s'étaient accompagnées dans les 2 cas d'une splénomégalie importante qui avait occasionné une splénectomie quelques mois avant le premier examen. Les tests antihématies furent négatifs dans un cas; dans le second, une agglutination des hématies trypsinisée 0 Rh₊ avait été décelée.

Les cas négatifs se répartissent ainsi :

- 17 cas de leucopénies isolées ou associées à une anémie,
- 2 cas d'anémie hémolytique congénitale,
- 8 cas d'anémie hémolytique acquise,
- 22 cas d'anémie d'étiologie diverse,
- 2 cas de polyglobulie,
- 4 cas de lupus érythémateux disséminé,
- 2 cas de purpura rhumatoïde.

III - Au cours des hémopathies malignes :

Les tests furent trouvés positifs dans un seul cas de réticulose maligne. Ils furent négatifs au contraire dans :

- 8 cas de leucose aigue,
- 4 cas de leucémie lymphoïde chronique,
- 1 cas de leucémie à monocytes,
- 9 cas de maladie de Hodgkin,
- 1 cas de maladie de Kallher,
- 1 cas de lymphosarcome.

IV - Au cours des maladies générales :

Les tests furent pratiqués et trouvés négatifs dans 38 cas de maladies générales :

- 6 cas de maladies pleuropulmonaires,
- 8 cas de maladies hépato-biliaires,
- 7 cas de maladies rénales,
- 17 cas de maladies variées.

maladies non hématologiques	Sujets normaux
<u>38 cas négatifs :</u>	<u>1.000 sujets testés :</u>
2 pneumonies à virus	8 tests fortement positifs à plusieurs reprises.
2 tuberculoses pulmonaires	
2 pleurésies sérofibrineuses	
4 ictères chroniques	2 tests fortement positifs et non refaits.
4 cirrheses hépatiques	
1 malformation biliaire	5 tests douteux.
5 néphrites	3 tests faiblement positifs.
2 néphroses lipoidiques	
1 diabète	<u>Détails -</u>
1 polyarthrite chronique évolutive	- cas fortement positifs : 1 lupus érythémateux chronique,
1 épilepsie traitée	- cas douteux : 1 B.W. + 1 cas de fragilité capillaire isolée sans autre trouble de la crase sanguine ni de la coagulation.
1 maladie périodique	
1 maladie de schuller-Chritian	
11 maladie de diagnostic exact ignoré.	

TABLEAU XII

Tests effectués au cours de maladies non hématologiques et chez les sujets normaux.

Pouvoir agglutinant de certains sérums de sujets normaux :

Notre expérimentation nous a permis de déceler des thromboagglutinines chez des sujets normaux. Parmi ces cas, les tests furent fortement positifs dans 10 cas dont 8 ont pu être testés à plusieurs reprises. Ils furent positifs faiblement dans 3 autres cas et douteux dans 5 derniers cas. Or l'examen clinique des 11 sujets qui furent revus ne nous permit pas de déceler de troubles importants. Les seuls anomalies constatées furent :

- un lupus érythémateux chronique, mais non en poussée lors de l'examen et s'accompagnant d'un état général normal.

- une fragilité capillaire observée chez une femme et s'accompagnant d'une tendance aux saignements faciles. Les tests de l'hémostase et l'étude de la coagulation ne permit de déceler aucun trouble.

- enfin un cas donnant des réactions douteuses présentait des réactions syphilitiques positives.

Ces thromboagglutinines furent décelées au cours de l'examen de 1.000 sujets normaux, donneurs de sang volontaires. Ils furent testés par groupes de 100 à 200 et les pouvoirs agglutinant recherchés sur plusieurs suspensions plaquettaires. Les cas positifs furent ensuite vérifiés sur au moins 5 variétés plaquettaires différentes. Enfin dans quelques cas les tests furent répétés à plusieurs mois d'intervalle avec des résultats identiques.

Leur étude permit de leur reconnaître des caractères identiques aux thromboagglutinines décelées chez les malades thrombopéniques (Cf. tableau VIII). Toutefois leur existence fit soulever plusieurs hypothèses qui doivent être discutées :

- Erreur d'expérimentation due à ce que le sérum des sujets qui présentent de telles agglutinines, présentent également un trouble de la coagulation,

- Existence de groupes plaquettaires : l'agglutination des plaquettes testées provenant de ce que les tests avaient été faits sur un nombre insuffisant de variétés plaquettaires,

- Existence d'anticorps inactifs in vivo du fait de leur faible amplitude thermique.

1° - Hypothèse : agglutination en rapport avec un facteur de coagulation -

Suivant la première hypothèse il pourrait s'agir d'agglutination plaquettaire provenant d'un trouble de coagulation du sang dont provient le sérum : en fait, nous n'avons jamais pu mettre en évidence d'anomalie. On peut se demander alors si un des facteurs normaux de coagulation ne peut être dans les conditions de l'expérimentation, responsable de cette agglutination.

En fait, cette conception se heurte à plusieurs objections. Outre le fait que seuls certains sérums sont capables de réagir ainsi, il convient de remarquer que les agglutinines sont présentes dans le plasma frais et chauffé à 56° puis centrifugé (manipulation qui élimine le fibrinogène) aussi bien que dans le sérum. De même la réaction peut être reproduite un grand nombre de fois, il n'existe pas d'agglutination chez tous les sujets présentant des troubles de la coagulation.

- La prothrombine ne semble pas intervenir : les tests ont été trouvés positifs chez certains sujets ayant des taux faibles de prothrombine. D'autre part, chez les sujets présentant des troubles de la consommation de la prothrombine, ils ne sont pas toujours positifs. Enfin l'adsorption de la prothrombine sur le sulfate de baryum n'empêche pas l'agglutination.

- La thrombine : peut exister dans les sérums normaux à des taux infimes mais peut être suffisants à provoquer une agglutination des plaquettes. Pour éliminer cette possibilité nous avons ajouté aux suspensions plaquettaires des solutions de thrombine à des taux progressifs, puis les préparations furent agitées pendant 30 minutes à la température du laboratoire et la lecture faite macroscopiquement et microscopiquement. Il fut alors constaté qu'aux dilutions faibles se produisait une prise en masse des plaquettes qui étaient toutes rassemblées au centre de la préparation en un voile compact. Aux dilutions fortes les plaquettes restaient bien isolées les unes des autres. Dans aucun cas, nous n'avons observé d'agglutination du type de celle qui caractérise un test immunologique positif.

Les mêmes expériences furent faites avec un sérum normal non agglutinant auquel des dilutions progressives de thrombine furent ajoutées, puis la préparation testée sur des suspensions plaquettaires; les mêmes résultats furent observés. Des expériences voisines furent faites avec une solution de chlorure de calcium : elles donnèrent des résultats identiques.

- L'Ac. globuline : l'action de l'Ac. globuline semble aussi pouvoir être rejetée. Celle-ci est en effet détruite par le chauffage : or les sérums chauffés à 60° pendant 30 minutes conservent leur pouvoir agglutinant.

- Facteur d'adhésivité plaquettaire : J.Ph. SAVITSKY (55) testent de nombreux sérums et montre que certains d'entre eux possèdent le pouvoir d'augmenter l'adhésivité des plaquettes et de raccourcir le temps de rétraction du caillot. Mais ce facteur d'adhésivité plaquettaire dans le sérum est à un taux maximum quelques heures après la coagulation complète puis diminue assez rapidement ensuite. De plus il est détruit par chauffage à 56° pendant 20 minutes.

- L'existence d'anticoagulants dans le sang de ces sujets n'a pu être démontré dans aucun des cas explorés. Les temps de coagulation standard furent d'ailleurs toujours normaux.

Il semble ainsi que l'on puisse éliminer l'intervention de tout facteur de coagulation normal ou anormal.

2° - Hypothèse : il s'agit d'isoanticorps -

L'existence d'anticorps immuns semble tout d'abord pouvoir être écarté du fait des antécédents des sujets testés : aucun de ceux que nous avons revu n'avait reçu de transfusions sanguines. Dès lors, il faut admettre que s'il s'agit d'isoanticorps, les thromboagglutinines sont des agglutinines naturelles. Deux objections pouvaient cependant être faites : les agglutinines décellées agissent sur toutes les variétés de plaquettes, elles agissent également sur les propres plaquettes du sujet qui en est porteur : ceci est contraire aux règles habituelles. Cependant W. WEINER et col. (56), J.V. DACIE et M. CUTEUSH (57) et JJ. Van LOGHEM et M. Van der HART (58) purent mettre en évidence au cours de certaines anémies hém-

lytiques acquises des isoanticorps actifs contre des antigènes de groupe portés par les hématies des malades. Pour préciser ce point, nous avons été amenés à faire un certain nombre d'expériences : celles-ci n'ont pu confirmer aucun des résultats rapportés par d'autres sur ce sujet.

- Expériences de croisement :

Modalités de l'expérience -

Nous avons fait ainsi 2 expériences qui consistent à tester les sérums de sujets normaux sur les plaquettes des mêmes sujets. Une première expérience fut faite au moyen des sérums et des plaquettes de 54 donneurs (23 de groupe O, 27 de groupe A, 5 de groupe B et 3 de groupe AB). La deuxième porta sur 25 donneurs (12 de groupe O et 13 de groupe A).

Etant donné les temps d'expérimentation nécessaires pour réaliser ces croisements, nous avons dû préparer les sérums et les suspensions plaquettaires le jour du prélèvement; les tests ne furent faits que le lendemain. Nous avons auparavant vérifié que la conservation des sérums et des suspensions plaquettaires à 4° pendant 24 heures ne modifiait pas les résultats. Des contrôles furent faits par répétition des tests chez un certain nombre de sujets. Certains tests furent également répétés quelques temps après la première expérience.

Résultats -

Au cours de cette expérimentation, il ne fut pas possible de déceler de suspensions plaquettaires de comportement différents du point de vue immunologique. Les sérums donnant une agglutination agglutinèrent toutes les suspensions plaquettaires.

- Recherche de l'agglutinabilité des plaquettes par les sérums possédant des agglutinines anti-A ou anti-B :

Au cours de l'expérience précédente les sérums des sujets A B ou O n'avaient pas agglutiné les plaquettes de sujets de groupes différents. Cependant, pour ne pas laisser d'équivoque nous avons opéré de la façon suivante :

Modalité d'expérience -

Les sérums utilisés pour cette étude furent préalablement testés sur des hématies de groupe A et B afin de vérifier leur pouvoir agglutinant vis-à-vis de ces agglutinogènes. Puis les tests furent faits sur des plaquettes en suspension dans leur plasma et sur des plaquettes lavées 3 fois suivant la technique décrite.

Deux techniques de détection des agglutinations furent employées: une technique utilisant une incubation des préparations à 18° et 37° pendant plusieurs heures et notre technique habituelle. Les lectures furent faites au microscope après incubation de 2 heures et 8 heures pour

les tests faits selon la première technique. Des témoins furent également préparés où le sérum était remplacé par une solution de ClNa à 9 p. 1.000.

Résultats -

A la deuxième heure nous n'avons observé aucune agglutination. A la 8^h heure existait dans la plupart des tubes, y compris les tubes témoins, des amas plaquettaires : il n'y avait aucune corrélation entre les anticorps sériques contenus dans la préparation et leur présence. Les tests faits avec agitation furent tous négatifs.

Enfin, il est à noter que au cours de nos expériences faites sur les sérums des malades dont beaucoup avaient été transfusés, des suspensions plaquettaires de groupes différents ont été utilisées : Il ne fut jamais trouvé de sérums n'agglutinant que certaines variétés de suspensions plaquettaires.

- Critique des résultats :

Il peut être objecté cependant que le nombre des suspensions plaquettaires testées est encore insuffisant et que si les expériences étaient répétées sur un plus grand nombre, des différences de comportement entre les sérums pourraient être décelées.

En conclusion de ces expériences on ne peut que soulever des hypothèses :

- ou bien les plaquettes, reconnues par beaucoup (59) comme des cellules incomplètes ne sont porteuses que d'antigène d'espèce, ce qui revient à nier l'existence des groupes plaquettaires,

- ou bien, ce qui paraît théoriquement plus probable, elles sont également porteuses d'antigènes de groupe. Mais nos méthodes de détection des anticorps correspondants sont encore insuffisantes pour bien les mettre en évidence. Ces antigènes seraient peut-être décelables par des méthodes plus sensibles telles que les absorptions.

3^e - Hypothèse : les thromboagglutinines décelées ont une amplitude thermique faible et ne sont pas actives in vivo :

Une dernière hypothèse pouvait être soulevée : au cours de certaines affections à virus, on voit le titre des agglutinines froides s'élever très fortement sans provoquer à tous coups une anémie hémolytique. De même, en raisonnant par analogie, on pouvait admettre qu'au cours de certaines infections, parasitoses, etc... des agglutinines antiplaquettaires à amplitude thermique basse pouvaient se développer, sans provoquer de thrombopénie, puis persister comme une signature de l'affection. En fait, nous n'avons trouvé aucune relation entre l'existence d'agglutinines antihématies froides et celle de thromboagglutinines. Par ailleurs, les tests faits à différentes températures (4^e - 18^e et 37^e) ont montré que le taux d'activité des thromboagglutinines étaient à peu près les mêmes aux 3 températures.

Enfin, chez les sujets normaux, les titres d'agglutination des sérums thromboagglutinants étaient du même ordre que ceux des sujets thrombopéniques.

Conclusions :

L'expérimentation faite au moyen d'une technique nouvelle et portant sur 200 sérums de malades présentant des troubles très différents, permet de déceler 11 cas de thromboagglutinines. Les caractères sérologiques de celles-ci purent ainsi être étudiés.

Cependant certains sérums de sujets bien portants montrèrent une même action thromboagglutinante. Aucun caractère sérologique de différenciation n'a pu être mis en évidence. Force est donc d'admettre que les thromboagglutinines décelées chez les sujets normaux et les malades sont de même nature et que les facteurs présidant à leur action in vivo restent encore à déterminer.

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION CLINIQUE - SIGNIFICATION DES THROMBOAGGLUTININES

Les observations cliniques des cas au cours desquels des thromboagglutinines furent décelées sont encore peu nombreux et souvent fragmentaires : c'est dire qu'il est encore trop tôt pour isoler des cadres nosologiques précis. Nous tâcherons dans les pages qui suivent de voir quels sont les arguments qui permettent de leur reconnaître un rôle dans le déterminisme des accidents cliniques et d'en déterminer la nature. Pour cela nous envisagerons successivement les purpuras thrombopéniques aigus et les purpuras thrombopéniques chroniques.

1^{re} - LES PURPURAS THROMBOPENIQUES AIGUS

Les deux cas au cours desquels des thromboagglutinines furent mises en évidence présentèrent des caractères cliniques assez particuliers. Après les avoir étudiés, nous essayerons de mettre en évidence les faits biologiques, anatomiques et physiopathologiques qui permettent de reconnaître aux agglutinines la responsabilité des troubles.

Caractères cliniques

Le premier cas, celui de Fr... s'est présenté dès les premiers accidents comme un purpura grave. Il correspond à une forme particulière de purpura aigu isolée par J. BERNARD et A. NENNA sous le titre de "Purpura thrombopénique aigu avec bulles sanglantes buccales et hématuries" (60).

Le début en fut brutal. Sans doute il fut précédé d'une éruption cutanée, mais dès sa constitution, il apparaît grave et l'élément hémorragique est prédominant.

Parmi les signes hémorragiques, on retrouve la prédominance des lésions bulleuses de la cavité buccale et les hématuries. Cette association est peu fréquente puisque J. BERNARD et A. NENNA ne la rencontre que dans 4 cas de purpura thrombopénique aigu idiopathique sur 24 cas observés. Elle paraît également assez spéciale puisque ces mêmes auteurs ne l'observent jamais au cours de 122 purpuras autres : thrombopathies constitutionnelles aplasies médullaires, leucoses aiguës. Par contre, les éléments hémorragiques cutanés sont moins importants : après une première poussée, ils ne se reproduiront pas.

Le syndrome hémogénique est encore complet : thrombopénie inférieure à 80.000 et qui augmente au cours de la maladie, temps de saignement supérieur à 20 minutes, irrétractilité totale du caillot.

La 2ème observation concerne également un purpura thrombopénique grave. Le nombre des plaquettes est très peu élevé, puisque les numérations successives donnent les chiffres de 43.000 et 31.000. Le temps de saignement, lors des premiers accidents, est de 13 minutes, la fragilité capillaire semble prouvée par la violence des hémorragies : le temps vasculaire de l'hémostase semble s'être très mal effectué puisque malgré l'apport local de thrombase, le saignement ne pût être interrompu. Enfin, il convient d'insister sur l'influence des transfusions. Dans les cas habituels, celles-ci entraînent un arrêt au moins momentané des hémorragies. Or ici il n'en est rien : malgré plusieurs transfusions les épistaxis furent d'une abondance exceptionnelle. Il fut même noté que les transfusions furent mal tolérées et suivies d'une accentuation des hémorragies. Quant au 2ème résultat du temps de saignement, il nous semble qu'il se trouve faussé par le traitement en cours (thrombase intraveineuse).

Ainsi dans nos deux cas, deux caractères cliniques se trouvent associés :

- l'importance des hémorragies,
- l'importance de la thrombopénie qui semble s'accroître au cours de l'évolution.

Les autres cas de purpura thrombopénique aigu au cours desquels des thromboagglutinines furent décelés sont peu nombreux :

J. DAUSSET, P. DELAFONTAINE et Y. FLEURIOT (38) publient l'observation d'une maladie présentant des troubles un peu différents. Il s'agissait surtout d'un purpura ecchymotique et pétéchiol, les seules hémorragies importantes furent des métrorragies qui survinrent au 8ème jour de la maladie mais qui n'eurent rien de dramatique et cessèrent vite. Le diagnostic de purpura thrombopénique thrombotique fut envisagé. La preuve ne peut cependant en être faite. Enfin, on remarquera que le temps de saignement était de 15 minutes, la thrombopénie de 20 à 30.000 que le signe du lacet était fortement positif. La ponction sternale mis en évidence des mégacaryocytes en nombre normal, sans aucune formation plaquettaire et sans amas de plaquettes dans leur voisinage. Les transfusions ne purent remonter la formule sanguine et la mort survint en moins de 3 semaines.

Ed. BENHAMOU, B. FERRAND et P. GRIGUET (61) d'autre part observent un purpura thrombopénique aigu d'une gravité bien moindre. Là encore existaient des hémorragies importantes et ne cédant pas aux transfusions. L'étude immunologique décèle une thromboagglutinine et l'électrophorèse montra une hypergammaglobulinémie. Un traitement cortisonique à la dose de 200 milligrammes par jour pendant 8 jours entraîna une guérison clinique et un abaissement du taux des gamma-globulines. Mais l'arrêt du traitement fut suivi d'une rechute qui cèda d'ailleurs à une nouvelle cure hormonale. Cependant, aucune précision ne fut donnée sur la thromboagglutinine décelée. Enfin, il est à noter que le test de Coombs erythrocytaire était positif.

Discussion de l'auto-immunisation

Il convient de rechercher quels peuvent être les faits qui permettent d'établir la notion d'auto-immunisation :

- Au point de vue hématologique l'aspect des mégacaryocytes présente un grand intérêt dans l'étude des purpuras.

B. DREYFUS et J.P. SOULIER (62) en 1947 reprennent les constatations faites avant eux et étudient les medullogrammes dans 9 cas de purpuras thrombopéniques idopathiques et 6 cas de purpuras symptomatiques. Ils concluent de leur étude :

- Qu'au cours des purpuras thrombopéniques aigus ou chroniques, l'hyperplasie mégacaryocytaire est la règle. Les mégacaryocytes à plaquettes y sont rares et les formes jeunes augmentées en nombre. Le taux des formes dégénérées est inférieur à la normale. Enfin, il est fréquent d'observer un assynchronisme entre la maturation nucléaire terminée et celle du cytoplasme encore bleu, parfois intensément basophile.

Fl. KISSMEYER NIELSEN (63) en 1951 fait des remarques analogues, précise que les plaquettes sanguines sont souvent anormales et possèdent une structure grossière. Enfin, il constate que les mégacaryocytes redeviennent normaux au point de vue quantitatif et morphologique après la guérison de la maladie.

Enfin, W. DAMESHEK et E.B. MILLER proposent (64) de classer les purpuras thrombopéniques en purpuras "mégacaryocytaires" et "amégacaryocytaires", suivant l'aspect de la moelle osseuse.

Mais A.V. PISCOTTA, M. STEFANINI et W. DAMESHEK (65) essayent de différencier parmi les purpuras mégacaryocytaires les aspects de la formule mégacaryocytaire des purpuras avec et sans auto-anticorps. Dans le premier cas en effet, il y aurait une maturation normale des mégacaryocytes avec prédominance des formes intermédiaires : il existerait des formations granuleuses avec agrégation de granulations en périphérie. Cependant la membrane cellulaire resterait intacte et il ne se formerait que peu de plaquettes. De plus, il y aurait une augmentation du nombre des formes dégénérées avec vacuolisation particulièrement prononcée du

cytoplasme. Dans quelques cas la rétraction des granulations depuis la périphérie de la cellule donnerait une augmentation de l'aire nue autour de la circonférence de la cellule. Les noyaux seraient intacts surtout dans les formes jeunes et intermédiaires.

En fait, ce sont là des distinctions difficiles à mettre en évidence. Seule, une étude faite sur un nombre suffisant de cas permettra d'en apprécier la valeur. Chez Fr... nous avons observé une augmentation franche du nombre des mégacaryocytes, toutefois moins importante que celle observée au cours des purpuras thrombopéniques constitutionnels. La formule mégacaryocytaire objectiva une augmentation des formes jeunes (mégacaryocytes à noyaux peu segmentés et cytoplasme non granuleux), l'absence des mégacaryocytes avec formations plaquettaires; mais il existait peu de formes dégénérées et surtout de nombreux noyaux de mégacaryocytes adultes sans cytoplasme en périphérie.

- Au point de vue anatomique :

Les aspects histologiques observés chez Fr... sont intéressants en ce qui concerne la diffusion des lésions : il existait des hémorragies microscopiques dans de nombreux organes, quelques foyers hémorragiques importants. Or ce sont là les lésions rencontrées par BEDSON et par TOCANTINS chez leurs animaux auxquels ils injectaient des doses assez importantes de sérums antiplaquettaires. De plus, par endroit les lésions de l'endothélium vasculaire paraissaient importantes.

Or, J. ROSKAM (66-67) a montré que dans les syndromes hémorragiques graves la part des lésions de cet endothélium n'est pas négligeable. S.P. BEDSON (25) put même dissocier les effets de la thrombopénie et des lésions vasculaires : il provoque une altération vasculaire sans thrombopénie par injection de sérum antihématies et ne constate aucun signe hémorragique. De même la thrombopénie induite par injection de sérum agar ne s'accompagne d'aucune lésion hémorragique. Mais si chez le même animal, il conjugue les deux actions, les hémorragies surviennent. Or expérimentalement, les sérums antiplaquettaires sont les seuls qui soient susceptibles de provoquer à la fois l'atteinte vasculaire et l'atteinte plaquettaire. J.F. ACKROYD confirme ces faits (29-32) lors de ses études sur les purpuras thrombopéniques au Sédormid.

- Mécanisme des accidents cliniques :

Il convient, pour établir l'auto-immunisation, d'examiner si un autre mécanisme est susceptible d'expliquer les accidents cliniques et si une théorie cohérente de l'auto-immunisation est possible.

Le rôle des médications utilisées

Le premier mécanisme qui peut être discuté est celui d'une atteinte des plaquettes et de l'endothélium vasculaire par un médicament quelconque.

Chez Fr... le purpura survient au cours d'un traitement par P.A.S. et I.N.H. Or les purpuras médicamenteux au P.A.S. sont actuellement connus. H.A. WURZEL et R.L. MAYOK (69) en rapporte récemment un cas typique où la responsabilité du P.A.S. pût être établie après guérison du malade par un test in vivo : l'administration d'une faible dose du médicament provoqua la récurrence du purpura.

Les accidents hémorragiques dus à l'I.N.H. semblent reconnaître plus souvent un autre mécanisme. G.L. LUISETTI (68) les observe chez 4,9 % des malades traités par lui au moyen de ce médicament. En fait, il semble bien que les accidents soient dus à une augmentation isolée de la perméabilité capillaire et des 3 cas rapportés, aucun ne présentait de thrombopénie.

Chez notre malade, les premiers accidents rappelaient les purpuras médicamenteux par la brusquerie du début, l'importance des épistaxis, la survenue brutale d'une thrombopénie importante. De plus l'éruption constatée qui précède ces accidents, l'eosinophilie constatée étaient en faveur d'un mécanisme allergique. Or il semble que cette hypothèse puisse être écartée :

Le premier argument est d'ordre clinique : l'évolution fut en effet absolument indépendante de la thérapeutique antituberculeuse. Les purpuras médicamenteux cessent habituellement lors de l'arrêt de la thérapeutique responsable et la thrombopénie se répare en 3 à 5 jours. Or ici la suspension de l'administration de P.A.S. n'empêche pas l'apparition des hémorragies. L'arrêt du traitement par I.N.H. n'amène aucune amélioration du syndrome clinique.

Le deuxième argument est d'ordre expérimental : Nous avons vu qu'ACKROYD avait pu mettre en évidence au cours de tels purpuras une activité antiplaquettaire du sérum ne se manifestant qu'en présence du médicament responsable. Nous avons alors tenté de reproduire ses expériences. Etant donnée l'agglutination de toutes les variétés de plaquettes par le sérum de Fr... nous avons dû utiliser un sérum dilué à différents taux en présence d'une solution de P.A.S. et d'une solution d'I.N.H. Des témoins furent faits en même temps : un témoin négatif et un témoin possédant une thromboagglutinine active au même taux que celle décelée chez Fr... Les expériences furent faites avec et sans agitation, et à 37°. En effet, au cours d'un purpura au sédormid nous avons pu mettre en évidence une thromboagglutinine active seulement en présence de sédormid et plus active à 37° qu'à 18 ou 4°. Les tests furent négatifs : c'est-à-dire que le sérum de Fr... se comporta comme le sérum thromboagglutinant et que le témoin négatif ne donna lieu à aucune agglutination.

De même le rôle de la thérapeutique semble ne pas être en jeu chez Le... car les médicaments prescrits avant les accidents semblent inoffensifs et de toutes façons furent interrompus lors des premiers accidents.

Le rôle des transfusions

De même l'immunisation par transfusions sanguines ne peut être intervenue dans ces deux cas. Les premiers examens furent faits chez Fr... avant toute transfusion. Chez Le... une seule transfusion avait été faite la veille du test d'agglutination.

Le rôle de la tuberculose

Le purpura survient chez Fr... au cours d'une tuberculose généralisée. Or déjà R. BENSAUDE et L. RIVET (70) en 1906 font remarquer que des purpuras peuvent survenir au cours de la tuberculose revêtant des types du purpura simplex ou du grand purpura hémorragique. Ceux-ci s'accompagnent souvent d'une poussée évolutive de la maladie.

MM. R. DEBRE, H.E. BRISSAUD et J.P. SOULIER (71) d'autre part, observent en 1949, six cas de purpuras compliquant des tuberculoses généralisées. Parmi ces 6 cas, 2 présentèrent des caractères très voisins de ceux du purpura observé dans notre cas et survinrent 3 et 6 semaines après le début d'un traitement par streptomycine. Ils guérissent tous deux malgré la poursuite du traitement. Ces auteurs discutaient alors la responsabilité de la thérapeutique pour l'éliminer avec une grande probabilité.

Enfin, P. GALY, J. FAVRE-GILLY et P. MOREL (72) observent un autre cas au cours d'une tuberculose pulmonaire miliaire et insistent sur l'évolution des mégacaryocytes médullaires qui au cours du purpura présentèrent une augmentation quantitative et des altérations morphologiques analogues à celles que nous avons trouvées chez Fr... La formule redevint normale après guérison du purpura.

Différentes hypothèses furent émises pour expliquer la survenue du purpura au cours de la tuberculose.

- le rôle des altérations hépatiques fut tout d'abord suspecté. BENSAUDE ET RIVET s'appuyant sur la fréquence des dégénérescences graisseuses du foie au cours des tuberculoses aiguës soulèvent l'hypothèse de l'influence des altérations dégénératives de cet organe. Cependant il ne semble pas que ce mécanisme doive être retenu. Dans le cas présent en particulier, l'étude histologique du foie ne montra aucune altération dégénérative. De plus, elle ne rend pas compte de l'altération des cellules de la lignée mégacaryocytaire au niveau de la moelle osseuse.

- De même, l'hypothèse de l'atteinte directe de la moelle osseuse par la tuberculose n'a jamais reçu confirmation. D'ailleurs, elle ne rend pas compte de l'atteinte élective de la lignée mégacaryocytaire.

- Une troisième hypothèse nous semble plus intéressante, selon laquelle les troubles seraient dus à l'atteinte des capillaires par une "toxine" ou un produit du métabolisme du B.K.

Certes sous cette forme l'hypothèse n'est guère vraisemblable d'autant plus que cette "toxine" n'est pas démontrée. Cependant, on a pu montrer que le sérum de certains sujets était capable de réagir avec la tuberculine servant d'antigène (test de Dubost).

Or, on connaît l'existence d'anémie hémolytique à autoanticorps et secondaires à des maladies à virus (anémies secondaires à une pneumonie à virus par exemple). En raisonnant par analogie, on pourrait admettre que lors d'une tuberculose généralisée, ou d'une tuberculose viscérale grave en poussée, il y aurait libération de certains métabolites microbiens. Ceux-ci se fixant sur les plaquettes du malade modifieraient leur surface antigénique. Dès lors, l'organisme pourrait se sensibiliser contre cet antigène plaquettaire et il se produirait une destruction des plaquettes du malade.

En fait, ceci ne reste qu'une hypothèse calquée sur celle émise pour expliquer la survenue des anémies hémolytiques acquises et qui demande confirmation.

- De même chez Le... aucun mécanisme ne rend compte de la thrombopénie. Si l'insuffisance hépatique dont souffrait ce malade peut expliquer les pétéchies présentées depuis 1952, il ne semble pas qu'elle puisse expliquer l'accident terminal. Il existe bien des syndromes hémogéniques au cours des cirrhoses, mais ceux-ci ne s'observent que dans les cirrhoses accompagnées d'une splénomégalie volumineuse. Or la rate de Le... n'est ni palpable, ni même perceptible. De plus, lors des accidents on ne nota aucun signe d'hépatite aiguë, de qui rend assez improbable une poussée purement hémorragique d'une cirrhose dont la preuve ne fut jamais faite.

En conclusion :

Le mécanisme immunologique semble selon toute probabilité, responsable du purpura observé chez Fr... et Le... L'étude immunologique, les arguments cliniques et anatomiques forment un ensemble qui rappelle exactement les troubles constatés chez l'animal après injection de sérum antiplaquettaire. Ainsi deux caractéristiques cliniques semblent devoir être retenues :

- L'importance de la thrombopénie,
- La diffusion et la gravité de l'atteinte vasculaire.

Quant à l'image mégacaryocytaire observée au niveau de la moelle osseuse elle peut être interprétée de deux façons : soit image spécifique due à l'atteinte des cellules souches de la série plaquettaire par les anticorps circulants, soit image non spécifique des purpuras à autoanticorps et témoignant seulement de l'effort de l'organisme pour réparer la thrombopénie.

22 - LES PURPURAS THROMBOPENIQUES CHRONIQUES

Le troisième cas qui fait l'objet de ce travail concerne une maladie de Werlhof assez typique :

Caractères cliniques

La maladie débute à l'âge de 10 ans par des épistaxis, des gingivorragies et des ecchymoses apparaissant au moindre choc. Dès cette date est notée l'irrétactilité du caillot. Puis les troubles cliniques persistent pour s'accentuer à la puberté. A ce moment des hémorragies profuses surviennent à chaque période menstruelle, entraînant une chute globulaire de plusieurs millions tous les mois.

L'examen hématologique met en évidence une thrombopénie variable, des plaquettes circulantes anormales et une hyperplasie mégacaryocytaire très importante : ces éléments sont en effet très nombreux, il existe surtout des formes jeunes avec peu de formations plaquettaires, il n'y a pas de formes dégénérées : c'est bien là l'aspect habituel rencontré dans les maladies de Werlhof.

L'étude de la crase sanguine met en évidence des anomalies constantes dans les thrombopathies constitutionnelles : temps de saignement modérément augmenté, lacet positif, irrétactilité du caillot et absence de troubles de la coagulation. Ces troubles ont une évolution parallèle à celle de la thrombopénie : s'accentuant lors des phases de thrombopénie et s'améliorant ensuite.

L'évolution sous traitement est aussi caractéristique puisque une première cure de cortisone amène une amélioration sensible, surtout la splénectomie eut un effet tout à fait remarquable : retour en 24 heures du temps de saignement à une valeur normale et retour en quelques jours de la thrombocytose à un taux normal qui semble rester à peu près fixe autour de 300.000.

Les autres cas rapportés sont peu nombreux :

M. STEFANINI et col. (39) rapportent le cas d'une femme de 60ans qui présentait depuis 3 à 4 ans du purpura et des hémorragies. Cliniquement existait une splénomégalie. La thrombopénie était de 51.000 et la ponction sternale montra une augmentation importante des mégacaryocytes. Des anticorps antiplaquettaires sont mis en évidence à un taux de 1/2048, le test de Coombs plaquettaire est positif et il n'existe aucune agglutinine irrégulière active contre les hématies.

Un premier traitement cortisonique est suivi d'une amélioration clinique, hématologique et sérologique (le taux des anticorps tombe à 1/512), mais celle-ci n'est pas durable. La splénectomie entraîne une nouvelle amélioration clinique (stabilisation de la thrombocytose à 160.000), une nouvelle baisse des anticorps. Toutefois, il persiste des anticorps circulants et les troubles hémorragiques n'ont pas totalement cessé. Par la suite, un traitement par ACTH permet une nouvelle amélioration non définitive.

W. HARRINGTON et col. d'autre part (41), étudiant 13 cas de purpura thrombopénique chronique trouve les tests positifs dans 3 cas. La

splénectomie seule entraîne une amélioration progressive dans deux cas et une rémission rapide dans un autre cas. Il y eut un échec chez une malade dont les thromboagglutinines étaient actives seulement sur quelques variétés de plaquettes. Dans quatre autres cas, la splénectomie fut associée au traitement hormonal et entraîna une rémission rapide de 3 échecs.

P. FLUCKIGER et col. (49) fait remarquer que dans les 3 cas où il obtint un test de Coombs positif, la thrombopénie variait entre des taux normaux et des taux faibles. Les cas où les tests furent négatifs, présentaient tous une thrombopénie constamment basse.

M. JAMRA et col. enfin (47) observe chez un garçon de 15 ans un purpura thrombopénique avec thrombolyse, à évolution chronique et qui fut amélioré par la splénectomie. Cependant il donne assez peu de détails cliniques.

Ainsi après MIESCHER, STEFANINI, HARRINGTON, conformément aux premières hypothèses émises par EVANS, on tend à admettre qu'un certain nombre de maladies de Werlhof relève d'un mécanisme immunologique. En fait, les arguments permettant une telle affirmation sont encore peu nombreux. Nous tâcherons de montrer quels sont-ils.

Discussion de l'auto-immunisation

- Les arguments cliniques :

Nous avons vu que la base de la théorie physiopathologique d'Evans était l'existence de thrombopénies au cours des anémies hémolytiques acquises avec auto-anticorps. Ces anémies furent longtemps prises pour des formes tardives des anémies hémolytiques congénitales jusqu'au jour où des techniques précises permirent de mettre en évidence les anticorps incomplets. Or, elles présentent certaines analogies évolutives avec la maladie de Werlhof :

Leur début est souvent subaigu précédé d'une période de fatigue générale, de pâleur à laquelle la numération n'est souvent pas faite. Puis survient une crise de déglobulisation parfois grave, le taux des hématies descendant au-dessous de 1.000.000. Après un temps variable, cette crise s'atténue, la reglobulisation est cependant souvent interrompue par des rechutes habituellement moins grave que la première crise.

Au point de vue hématologique : certains signes sont différents de ceux des anémies hémolytiques congénitales (résistance globulaire, macro- ou normocytose), mais les signes fondamentaux de l'hémolyse sont identiques (même réticulocytose importante, même augmentation de la bilirubinémie indirecte). Enfin, au niveau de la moelle osseuse, l'hyperplasie des éléments érythrocytaires est constante. Ainsi parmi les thrombopathies chroniques, il pourrait en exister d'acquises, présentant le syndrome hémogénique complet et dont les caractères de dissociation ne sont pas encore connus.

Le traitement cortisonique permet habituellement une reglobulisation importante et plus rapide que la reglobulisation spontanée, mais elle doit être faite à des doses suffisamment importantes, un traitement d'attaque étant suivi d'un long traitement d'entretien à doses plus faibles. La splénectomie aide beaucoup à la guérison, bien qu'elle n'ait pas l'effet spectaculaire qu'elle présente dans la maladie de Mirkowski-Chauffard et qu'elle soit souvent mal supportée. Enfin l'effet est, dans un certain nombre de cas, incomplet, il persiste une anémie de l'ordre de 3.000.000 pendant un temps assez long. De même, le traitement hormonal a des effets heureux sur les thrombopénies chroniques, la splénectomie est loin d'avoir toujours un effet définitif et il se peut que bon nombre des cas actuellement améliorés de façon seulement provisoire par la splénectomie, soient en fait des thrombopénies acquises.

- L'association de thrombopénie aux anémies hémolytiques acquises n'est pas rares. J. DAUSSET (73) en observe 4 cas sur 47 cas d'anémie à autoanticorps chauds idiopathiques. Dans deux de ces cas, les tests furent positifs contre les plaquettes et dans l'un d'eux également contre les leucocytes. (Les deux autres cas furent étudiés avant l'emploi de la technique actuelle). Or cliniquement ces purpuras thrombopéniques se présentent comme une maladie de Werlhof et peuvent précéder l'anémie hémolytique. Les anticorps décelés semblent être moins persistant que ceux dirigés contre les hématies : dans un des cas on assista à une disparition des anticorps alors que la thrombocytose était revenue à la normale, dans l'autre, ils disparurent après un traitement cortisonique. Enfin, ils purent être dissociés par absorptions des anticorps anti-hématies et anti-leucocytes.

Les anémies hémolytiques ne sont d'ailleurs pas les seules maladies de cette nature et dans ces dernières années des leucopénies en rapport avec des agglutinines leucocytaires furent également individualisées (74). De plus J. DAUSSET et A. NENNA (75) individualisent une "pancytopénie chronique idiopathique avec leucoagglutinine sérique". MIESCHER confirme ces faits par détection de ces agglutinines au moyen d'un test fait chez l'animal et analogue à celui proposé pour les thromboagglutinines. Van LOGHEM en observe également quelques cas et S. MOESCHLIN et K. WAGNER (76) montrent la présence de leucoagglutinines dans le sang de malades présentant des leucopénies secondaires à la prise de pyrimidon : celles-ci ne sont décelables qu'au cours de la médication.

Ainsi, au point de vue clinique l'existence de thrombopénies chroniques avec thromboagglutinines paraît théoriquement vraisemblable, complétant le schéma des hémopathies immunologiques.

- Les arguments expérimentaux :

Les arguments expérimentaux sont en fait peu nombreux, car on s'est jusqu'à ce jour attaché plus à l'étude de l'injection de doses uniques et assez fortes de sérum antiplaquettaire qu'à celles de doses faibles et longtemps répétées. Il semble cependant que les tests faits par MIECHER sur l'animal soient un argument expérimental qui mérite d'être retenu.

- Les arguments sérologiques :

Les arguments sérologiques sont actuellement encore insuffisants pour entraîner la conviction tant que l'on ne connaîtra pas la cause de l'agglutination des plaquettes par des sérums de sujets normaux, ni l'importance pratique des groupes plaquettaires. Cependant, l'existence de tests de coombs positifs chez de tels malades (Tests de Coombs plaquettaires) est déjà à retenir : chez les sujets normaux, tous les tests de Coombs plaquettaires pratiqués furent négatifs.

- Le rôle des transfusions :

Les tests ne sont faits habituellement que lorsque plusieurs transfusions ont déjà été pratiquées : c'est notamment le cas de notre malade. On peut se demander alors si ces transfusions ne sont pas à l'origine de l'apparition des thromboagglutinines : là encore, il est trop tôt pour donner une réponse sûre. Il est probable qu'un tel mécanisme soit parfois en jeu.

Ce mécanisme nous paraît vraisemblablement en cause dans l'apparition d'une leucoagglutinine chez Du... : en effet celle-ci n'est apparue qu'en Mars et ne s'est accompagnée d'aucune leucopénie.

En conclusion :

Si l'existence d'agglutinines antiplaquettaires est démontrée par un certain nombre de tests faits au cours des purpuras thrombopéniques chroniques, leur signification demande pour être bien connue des travaux complémentaires, afin de savoir s'il s'agit d'anticorps secondaires aux transfusions multiples ou s'il faut reconnaître parmi les maladies de Werlhof, certaines thrombopathies constitutionnelles à mettre en parallèle avec les anémies hémolytiques du type Minkowski-Chauffard, et certaines acquises à mettre en parallèle avec les anémies hémolytiques acquises et les leucopénies immunologiques et dont les tests diagnostiques sont encore à établir.

32 - DEDUCTIONS THERAPEUTIQUES

La mise en évidence de thromboagglutinines au cours de certains purpuras demande de revoir le problème thérapeutique de ces purpuras. Ainsi on discutera successivement le traitement par transfusions, les hormones corticosurrénales et la splénectomie.

- Les transfusions :

Elles sont souvent nécessaires pour réparer l'anémie due aux hémorragies ou même assurer l'hémostase. En fait, dans nos deux cas de purpura aigu elles ne furent pas très efficaces. De plus elles ne semblent pas avoir été bien supporté chez Le... Enfin, il se peut que l'augmentation de la masse sanguine qu'elles provoquent facilite, dans une certaine

mesure le danger d'une hémorragie grave. C'est dire qu'elles nous semblent ne devoir être faites que si elles sont indispensables pour remonter un chiffre globulaire bas.

Les transfusions de plaquettes ont été proposées par de très nombreux auteurs dans le traitement des purpuras thrombopéniques (77 à 84) : elles ont l'avantage d'augmenter le nombre des plaquettes pendant quelques jours et surtout de faire baisser le temps de saignement : en fait elles ont deux inconvénients : le peu de durée de leurs effets, l'épuisement assez rapide de ceux-ci lorsqu'on les répète. Mais dans les purpuras avec anticorps, elles perdent leur intérêt puisque les plaquettes sont détruites rapidement et risquent d'être mal supportées. Enfin, elles pourraient entretenir l'immunisation.

- l'hormonothérapie :

L'utilisation de l'ACTH et de la cortisone est au contraire recommandée. Ces hormones ont en effet plusieurs actions favorables.

M.N. ROBSON et J. DUTHIE (85) montrent que, après leur administration, la résistance capillaire mesurée à la ventouse, augmente. B.M. JACOBSON confirme ce fait (86).

D'autre part, elles ont une action freinatrice sur la synthèse des anticorps et semblent agir également en diminuant leur action. D'ailleurs au cours des anémies hémolytiques avec auto-anticorps elles ont déjà donné des résultats appréciables (87 à 90) expérimentalement elles semblent également avoir une action sur ces anticorps (91).

Dans les purpuras thrombopéniques idiopathiques elles ont également donné des résultats intéressants et même en dehors de toute thrombopénie, il est habituel, lors de leur administration d'observer une augmentation du nombre des plaquettes. Elles semblent avoir une action médullaire directe.

En effet dans les cas de Fr... et de Le... on assiste à une amélioration très nette de l'état général après institution du traitement hormonal pouvant faire espérer une évolution favorable. Cependant, le risque d'accidents cérébro-méningés persiste et même il se pourrait que dans certains cas l'hormonothérapie favorise l'apparition des accidents par la poussée hypertensive qu'elles occasionnent (90).

Chez Du... le traitement cortisonique s'accompagne d'une diminution des anticorps circulants et d'une diminution des hémorragies menstruelles.

- la splénectomie :

Les indications de la splénectomie doivent aussi être discutées : cette intervention est habituellement suivie d'une augmentation rapide des plaquettes sanguines et d'une diminution du temps de saignement. La rate est le principal lieu de formation des anticorps et de destruction des

plaquettes. Dans un cas de purpura thrombopénique rapporté par YOSHIRO-HIRACKA (100) les extraits spléniques, de même que le sérum du malade, injectés à l'animal, provoquaient chez celui-ci une thrombopénie.

Cependant, elle a contre elle l'évolution souvent bénigne des purpuras thrombopéniques aigus. D'autre part si dans les anémies hémolytiques acquises, elle s'accompagne d'une reglobulisation rapide avec diminution des signes d'hémolyse, elle est souvent mal supportée par ces malades et suivie plus ou moins tôt et dans un nombre appréciable de cas, de nouvelles crises de déglobulisation.

Ainsi, n'est-elle à envisager qu'après avoir obtenu déjà une amélioration du syndrome hémogénique : c'est dire la valeur d'un traitement mixte : hormonal puis chirurgical.

En conclusion :

Il semble qu'on puisse provisoirement adopter comme conduite thérapeutique le schéma suivant :

- Tenter d'obtenir l'arrêt des hémorragies par un traitement hémostatique habituel et si besoin quelques transfusions de sang frais. Dans les cas graves on peut être amené à recourir à des traitements tels que l'injection de thrombase intraveineuse.

- Faire un traitement hormonal en respectant les règles habituelles, afin d'obtenir une amélioration franche.

- Puis, lorsque la thrombocytose aura atteint un chiffre permettant une intervention chirurgicale se discutera la splénectomie : dans certains cas graves, aigus on est assez tenté de la faire précoce du fait des risques d'accidents cérébro-méningés. Dans les autres cas, on peut adopter une conduite moins interventionniste et prescrire un traitement hormonal d'entretien par administration de doses faibles de cortisone buccale par exemple. La splénectomie ne sera alors effectuée que si après plusieurs mois les troubles persistent.

CONCLUSIONS

La notion de thromboagglutinine a été établie par de nombreux travaux expérimentaux : Dans une première série de travaux purent être apportées les preuves de l'antigénicité des plaquettes, puis depuis une dizaine d'années des chercheurs de tous les pays se sont attachés à mettre en évidence dans le sérum des sujets atteints de purpura thrombopénique des facteurs antiplaquettaires. ACKROYD montra tout d'abord la responsabilité d'anticorps sériques dans le déterminisme des troubles hémorragiques secondaires à la prise de Sédormid. Ses travaux furent le point de départ de toutes les tentatives actuelles.

Depuis un an nous sommes attachés à la mise en évidence et l'étude des thromboagglutinines. Une technique de détection utilisant l'agitation au cours de la réaction a été mise au point et a permis l'étude de ces anticorps. Leur étude, en particulier au cours de 3 purpuras thrombopéniques qui font l'objet de ce travail, permit de leur reconnaître les caractères suivants :

- Présence dans le plasma et le sérum des malades,
- Activité à 42°, 18° et 37° C.,
- Thermostabilité,
- Activité avec une marge de Ph assez large,
- Résistance à l'action du sulfate de baryum,
- Résistance au stockage à - 20° pendant 3 mois,
- Absorption sur plaquettes humaines,
- Présence dans la fraction gamma-globulinique du sérum.

Cependant, de telles agglutinines ne sont pas présentes seulement dans des cas de purpura thrombopéniques, mais ont pu être décelés chez des sujets apparemment normaux. Leur étude sérologique ne permit pas de les différencier des précédentes. Leur signification est alors discutée et on put éliminer l'hypothèse d'un trouble de la coagulation, de l'existence d'isoanticorps naturels ou immuns chez ces sujets. L'hypothèse d'une agglutinine inactive in "vivo" est également discutée.

Parmi les 3 cas présentés dans ce travail, il existait 2 purpuras aigus et une maladie de Werlhof.

Les purpuras aigus se présentèrent comme des purpuras hémorragiques d'une extrême gravité. Deux caractéristiques parurent importantes :

- L'importance et l'aggravation progressive de la thrombopénie,
- L'importance et la diffusion des lésions capillaires.

De tels cas font discuter les purpuras médicamenteux dont ils ont la brusquerie clinique, l'importance des lésions hémorragiques, mais dont l'évolution est rapidement favorable après suppression du médicament responsable. Les autres purpuras aigus thrombopéniques sont également discutés : des éléments cliniques et biologiques sont recherchés : mais actuellement le nombre des cas est insuffisant pour faire autre chose que des hypothèses : l'étude de la formule mégacaryocytaire serait peut-être capable d'apporter cet élément différentiel. Les tests sérologiques sont cependant les meilleurs tests actuels.

Les purpuras thrombopéniques chroniques

Des purpuras thrombopéniques furent trouvés par plusieurs auteurs dans les purpuras thrombopéniques chroniques : cliniquement, ils se présentaient tous comme des maladies de Werlhof. L'étude sérologique, la recherche du "test de Coombs plaquettaire", l'évolution de ces cas sous traitement font discuter la dissociation nosologique de la maladie de Werlhof. Un parallélisme entre ces purpuras et les anémies hémolytiques acquises avec autoanticorps, de même qu'avec les leucopénies au cours desquelles des leucoagglutinines furent décelées, permet de justifier la notion théorique de purpuras thrombopéniques acquis avec anticorps plaquettaires. Le mode d'immunisation reste encore obscur et l'immunisation par transfusions répétées est discutée.

Quant au traitement de ces purpuras, il semble qu'il relève des hormones hypophysaire ou surrénale (A.C.T.H. et Cortisone) et si besoin de la splénectomie.

o
o o

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

J. SARRAILH.

Le Doyen de la Faculté de Médecine,

L. BINET.

Le Président de la Thèse,

Robert DEBRE.

A D D E N D A :

Depuis la rédaction de ce travail sont parus 3 articles intéressant l'immunologie des plaquettes et dont il convient de signaler l'essentiel :

D'une part, M. BESSIS et J. TABUIS (1) décrivent une réaction de lyse plaquettaire étudiant directement l'aspect cytologique des plaquettes mises au contact des sérums des malades et qui en cas de lyse prennent un aspect caractéristique au microscope à contraste de phase. De même, ils étudient une réaction d'opsonisation des plaquettes. Dans un premier temps, les plaquettes sont mises au contact du sérum du malade, puis elles sont lavées 3 fois en milieu salin et ensuite mises en présence d'une suspension leucocytaire. La phagocytose des plaquettes prouve le pouvoir opsonisant du sérum testé.

R. ANDRE, B. DREYFUS et M. BESSIS (2) purent, par cette méthode, mettre en évidence des anticorps dans le sérum d'un malade atteint de leucémie lymphoïde et en suivre l'évolution.

Par ailleurs, P. MOUREAU et A. ANDRE (3) cherchent à mettre en évidence les antigènes A et B dans les plaquettes par des méthodes d'absorption. Ils arrivent ainsi après contact des sérums anti-A et anti-B avec des broyats de plaquettes à faire baisser les titres d'agglutination des hématies A et B par ces sérums. Les plaquettes des sujets A absorbent l'anti-A et les plaquettes de sujets B l'anti-B.

(1) - BESSIS (M.) et TABUIS (J.) - Action cytologique des sérums anti-leucocytes et antiplaquettes. Etude par cinématographie en contraste de phase. Rev. Hématolo. 9, 127-138, 1954.

(2) - ANDRE (R.), DREYFUS (B.) et BESSIS (M.) - Anticorps antileucocytaires dans un cas de leucémie lymphoïde. Aspect hodgkinien de la rate. Influence de la splénectomie. Rev. Hématolo. 9, 50-68, 1954.

(3) - MOUREAU (P.) et ANDRE (A.) - Présence des antigènes A et B dans les plaquettes. Vox Sanguinis 4, 46-51, 1954.

B I B L I O G R A P H I E

- (1) - MARINO (M.F.) - Recherches sur les plaquettes du sang. C.R. Soc. biol. 58, 194-196, 1905.
- (2) - CHEVAL ET ROGER - Isolement des hémotoblastes. Production d'un sérum antihématoblastique. C.R. Soc. Biol. 59, 501-502, 1907.
- (3) - SACERDOTTI (C.) - Sul siero antiplastrinico (Nota preliminare). G. Accad. Med. Torino. 71, 75-80, 1908.
- (4) SACERDOTTI (C.) - Les plaquettes des mammifères et le sérum antiplaquettique. I- Etat actuel des connaissances sur les plaquettes des mammifères. II- Le sérum antiplaquettique. Arch. Ital. Biol. 52, 153-179, 1909.
- (5) TOCANTINS (L.M.) - Experimental thrombopenic purpura in the dog. Arch. Path. 21, 69-78, 1936.
- (6) - LESOURD (L.) et PAGNIEZ (Ph.) - Le sérum antiplaquette. J. Physiol. path. gén. 13, 55-66, 1911.
- (7) - LEE (R.I.) - and ROBERTSON (O.H.) - The effect of antiplatelet sérum on blood platelets and the experimental production of purpura hémorrhagica. J. Med. Res. 33, 323-336, 1916.
- (8) - TOCANTINS (L.M.) - Experimental thrombopenic purpura; Cytological an physical changes in the blood. Ann. Intern. Med. 9, 838-849, 1936.
- (9) - LEDINGHAM (J.C.G.) - The experimental production of purpura in animals by the introduction of antiblood plate séra. Lancet I, 1673-1676, 1914.
- (10) - LEDINGHAM (J.C.) and BEDSON (S.P.) - Experimental purpura. Lancet I, 311-315, 1915.
- (11) - WITABIKI (T.) - Studies on experimental purpura haemorrhagica produced by antiblood platelet. Kitasato Arch. exp. Med. I, 195-234, 1917.

- (12) - TOCANTINS (L.M.) and STEWART (H.L.) - Pathological anatomy of experimental thrombopenic purpura in the dog. Amer. J. Path. 15, 1-24, 1939.
- (13) - ACHARD (Ch.) et AYNAUD (M.) - Action des anticoagulants sur les globulins. C.R. Soc. Biol. 64, 898-900, 1908.
- (14) - ACHARD (Ch.) et AYNAUD (M.) - Les globulins dans l'anaphylaxie. C.R. Soc. Biol. 67, 83-84, 1909.
- (15) - ACHARD (CH.) et AYNAUD (M.) - Action du sérum antiglobulin in vivo. C.R. Soc. Biol. 74, 193-195, 1913.
- (16) - WEIMBRENNER (H.) - Ueber den Einfluss von antiplättchen und Witepepton auf die Blutplättchen des Kanninchens. Folia haemat, 51, 161-172, 1934.
- (17) - CRUZ (W.O.) and MOUSSATCHE (H.) - Haematological and blood pressure changes during Shock by antiplatelet serum. Acta haemat 6, 55-61, 1951.
- (18) - CRUZ (W.O.) and MOUSSATCHE (H.) and OLIVEIRA (H.P.) - Comparative blood volume changes in antiplatelet serum Shock and other types of shock. Proc. Soc. Exp. Biol. 79, 456-459, 1952.
- (19) - MOUSSATCHE (H.) and CRUZ (W.O.) - Blood histamine in the anaphylactoid shock produced by antiplatelet serum in dogs. Brit. J. Exp. Path. 30, 506-507, 1948.
- (20) - MOUSSATCHE (H.) And CRUZ (W.O.) - In vitro release by the antiplatelet serum of a substance from the platelets, active on the isolated gut of the guinea-pig. Arch. Int. Pharmacodyn. 91, 224-229, 1952.
- (21) - BEDSON (S.P.) - Blood platelets antiserum. Its specificity and role in the experimental production of purpura. Part I- J.Path. Bact. 24, 469-476, 1921.
- (22) - GOTTLIEB (H.J.) - Experimental purpura. J. Immunol. 4, 309-316, 1919.
- (23) - LESOURD (L.) et PAGNIEZ (PH.) - La rétraction du caillot sanguin et les hémato blasts : étude expérimentale. J. Physiol. path. Gén. 9, 579-592, 1907.
- (34) - AYNAUD (M.) - Globulins et sérums antihématiques. C.R. Soc. Biol. 71, 697-698, 1911.
- (25) - BEDSON (S.P.) - Blood platelets antiserum. Its specificity and role in the experimental production of purpura. Pat II- J. Path. Bact. 25, 94-104, 1922.

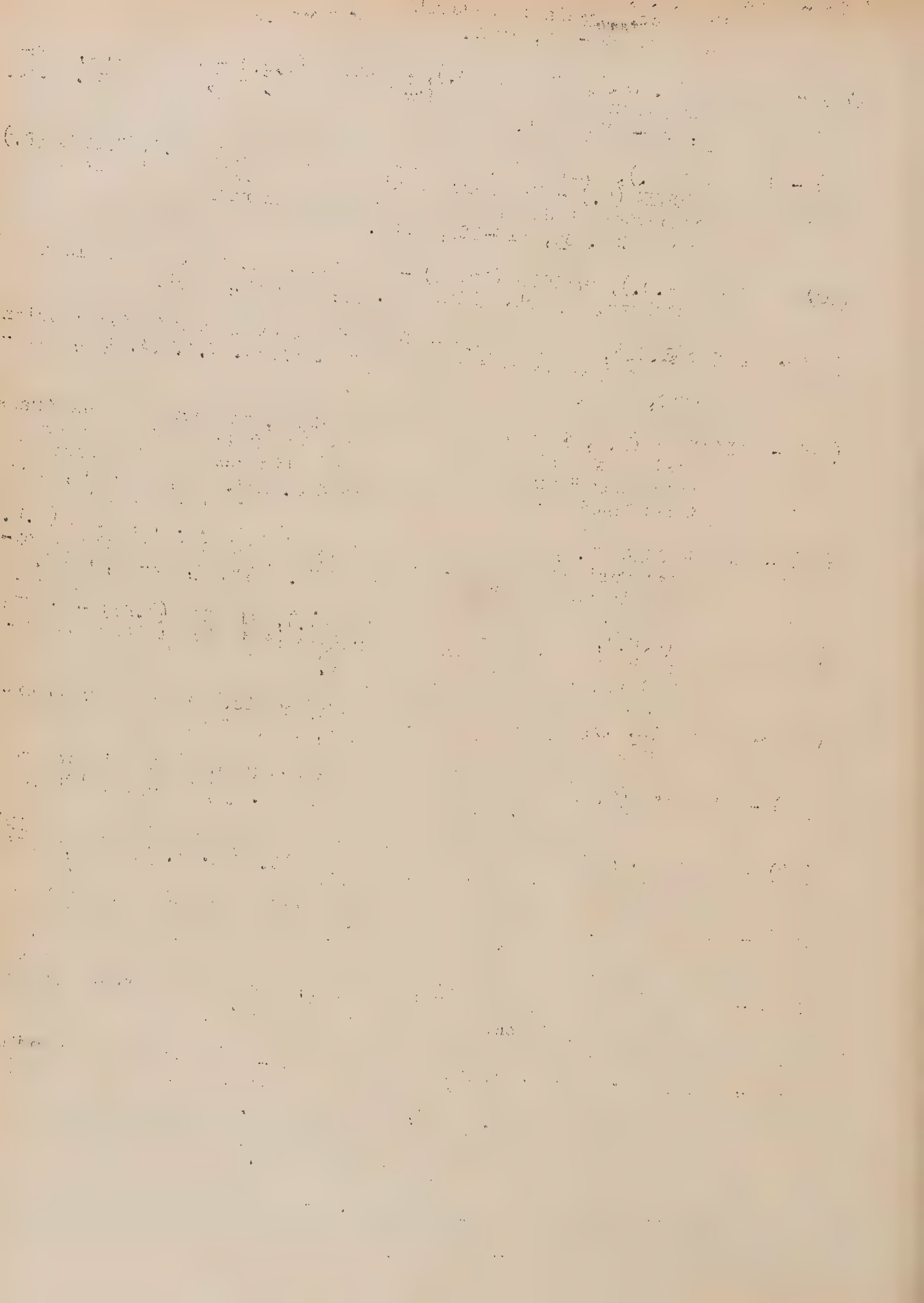
- (26) - COLE (R.I.) - Note on the production of an agglutinating serum for blood platelets. Johns Hopk. Hosp. Bull. 18, 261-262, 1907.
- (27) - MENNE (F.R.) - Immunologic experiments with platelets of human blood. J. infect. dis. 31, 455-460, 1922.
- (28) - GRANDJEAN (L.C.) - A case of purpura haemorrhagica after administration of quinine with specific thrombocytolysis demonstrated in vitro. Acta Med. Scand. 131, (Suppl. 213), 165-170, 1948.
- (29) - ACKROYD (J.F.) - The pathogenesis of thrombocytopenic purpura due to hypersensitivity to sedormid (Allyl-isopropyl-acetyl-carbamid). Clin. Sc. 7; 249-285, 1949.
- (30) - ACKROYD (J.F.) - The mechanism of the reduction of clot retraction by sedormid in the blood of patients who have recovered from sedormid purpura. Clin. Sci. 8, 235-267, 1949.
- (31) - ACKROYD (J.F.) - The role of complement in sedormid purpura. Clin. Sci. 10, 185-207, 1951.
- (32) - ACKROYD (J.F.) - Sedormid purpura : an immunologic study of a form of drug sensitivity. Progr. Allergy, 3, 531-572, 1952.
- (33) - ACKROYD (J.F.) - Allergic purpura, including purpura due to foods drugs and infections. Amer. J. Med. 14, 605-632, 1953.
- (34) - EVANS (R.S.) - And DUANE (R.T.) - Acquired haemolytic anemia : I- The relation of erythrocytes antibody production to activity of the disease. II- The significance of thrombocytopenia and leucopenia. Blood, 4, 1196-1213, 1949.
- (35) - EVANS (R.S.), TAKAHASHI (K.), DUANE (R.T.), DAYNE (R.) and LIU (C.K.) Primary thrombocytopenic purpura and acquired hemolytic anemia : evidence for a common etiology. Arch. Intern. Med. 87, 48-65, 1951.
- (36) - STEFANINI (M.), CHATTERJEA (J.B.), DAMESHEK (W.), ZANNOS (L.) and SANTIAGO (E.P.) - Studies on platelets II- The effect of transfusion of platelet-rich polycythemic blood on the platelets and hemostatic function in "idiopathic" and "secondary" thrombocytopenic purpura. Blood 7, 53-76, 1952.
- (37) - HARRINGTON (W.J.), MINNICH (V.), HOLLINGSWORTH (J.W.) and MOORE (C.V.) - Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. J. Lab. Clin. Med. 38, 1-10, 1951.
- (38) - DAUSSET (J.) DELAFONTAINE (P.), FLEURIOT (Y.) - Agglutination et destruction "in vitro" des plaquettes normales par le sérum d'une malade atteinte de purpura thrombopénique aigu. Inhibition par ce sérum de la rétraction du caillot normal. Sang 23, 373-384, 1952.

- (39) - STEFANINI (M.), DAMESHEK (W.), CHATTERJEA (B.J.), ADELSON (Ed.), MEDNICOFF (I.B.) - Studies on platelets IX - Observations on the properties and mechanism of action of a potent platelet agglutinin detected in the serum of a patient with thrombocytopenic purpura. (With a note on the pathogenesis of the disease). Blood 8, 26-64, 1953.
- (40) - STEFANINI (M.), CHATTERJEA (J.B.), ADELSON (Ed.) - Immunologic aspect of idiopathic thrombocytopenic purpura. J. Clin. Invest. 31, 665, 1952.
- (41) - HARRINGTON (W.), SPRAGUE (Ch. C.), MINNICH (V.), MOORE (C.V.), AULVIN (R.C.), DUBACH (R.) - Immunologic aspect mechanism in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. An. Int. Med. 38, 433-469, 1953.
- (42) - NOLTHENIUS (C.T.), HOORWEG (P.C.), Van LOGHEM (J.J.) - A factor promoting thrombocyte agglutination in the serum of three patients with symptoms of haemorrhagic diathesis. Vox Sanguinis 3, 27-33, 1953.
- (43) - KISSMEYER-NIELSEN (F.) - Demonstration of platelet antibodies by haemagglutination of antigen coated tanned erythrocytes. (a preliminary report). Vox sanguinis 3, 123-129, 1953.
- (44) - DAUSSET (J.), MALINVAUD (G.) - Influence de l'agitation sur l'agglutination thrombocytaire. Son utilité pour la recherche des thromboagglutinines et dans la pratique du test de Coombs plaquettaire. (Note préliminaire). Soc. Fr. Hématol. Sc. du 18-11-54. Sang (Sous presse).
- (45) - Dimonstrazione di un' attività piastrinolitica presente "in vitro" nel siero di sangue degli ammalati di porpora piastrinopenica essenziale. Haematologica. 36, 693-704, 1952.
- (46) - TULLIS (J.L.) - Platelet antibody tests in the diagnosis of purpura. New England J. Med. 249, 591-596, 1953.
- (47) - JAMRA (M.), DE ANGELIS (C.), VERRASTRO (T.), COELHO (Er.) - Etudes sur les thrombocytolysines. I- Sur l'existence de l'activité thrombocytolytique dans le plasma d'un cas de purpura thrombocytopenique. Sang 24, 699-705, 1953.
- (48) - MIESCHER (P.), CRUCHAUD (L.), HEMMELER (G.) - Nouvelles acquisitions concernant la pathogénèse de la thrombopénie essentielle. Helv. Med. Acta 19, 434-441, 1952.
- (49) - FLUCKIGER (P.), HAESSIG (H.), KOLLER (F.) - Ueber den thrombocyten Coombs test. soc. Suisse d'hématolo. Sc. du 8-V-53.
- (50) - STEFANINI (M.), PLITMAN (G.J.), DAMESHEK (W.), CHATTERJEA (J.B.), MEDNICOFF (Ir.B.) - Studies on platelets XI - Antigini-city of platelets and evidence of platelet groups and type in man. J. Lab. Clin. Med. 42, 723-738, 1953.

- (51) - GUREVITCH (I.), NEKLEN (D.) - ABO groups in blood platelets. *Nature* 173, 356, 1954.
- (52) - MAUPIN (B.), CHARY (R.) - Présentation d'une nouvelle méthode de séparation des leucocytes et des plaquettes sanguines. *Sang* 23, 336, 1952.
- (53) - ROSENFELD (R.E.), TUFT (H.S.) - Prothrombin absorption by baryum sulfate. *Arch. Biol.* 16, 329, 1948.
- (54) - ACKROYD (J.F.) - A simple method of estimating clot retraction with a survey of normal values and the changes that occur with menstruation. *Clin. Sci.* 7, 331-347, 1949.
- (55) - SAVITSKI (J.Ph.) - A plasma factor for platelet adhesiveness and clot retraction acceleration. *Blood* 8, 1091-1098, 1953.
- (56) - WEINER (W.), BATTEY (D.A.), CLEGHORN (T.E.), MARSON (F.G.W.), MEYNELL (H.J.) - Serological findings in a case of haemolytic anemia with some general observations on the pathogenesis of this syndrome. *Brit. Med. J.* 2, 125-128, 1953.
- (57) - DACIE (J.V.), CUTBUSH (M.) - Specificity of autoantibodies in acquired haemolytic anemia. *J. Clin. Path.* 7, 1954.
- (58) - Van LOGHEM (J.J.), Van der HART (M.) - Variétés of specific auto-antibodies in acquired haemolytic anemia. *Vox sanguinis* 4, 2-11, 1954.
- (58b.) - HOLLANDER (L.) - Specificity of antibodies in acquired haemolytic anemia. *Experientia* 9, 468, 1953.
- (59) - MAUPIN (B.) - Recherches histochimiques et biochimiques sur les plaquettes sanguines de l'homme. Thèse de doctorat ès sciences naturelles. Paris 1953.
- (60) - BERNARD (J.), NENNA (A.) - Le purpura thrombopenique aigu avec bulles sanglantes buccales et hématuries. *Sem. Hop. Paris* 29, 3422-3430, 1953.
- (61) - BENHAMOU (Ed.), FERRAND (E.), GRIGUER (P.) - Purpura thrombocytopénique aigu avec autoanticorps traité par la cortisone. *Soc. Med. Hop. Alger. (Sc. du 5-1-54). Algérie Méd.* 58, 319-321, 1954.
- (62) - DREYPHUS (B.), SOULIER (J.P.) - Diagnostic des purpuras thrombopéniques (étude des mégacaryocytes de la moelle sternale). *Thrombopénies de la ménopause. Rev. Hemat.* 2, 305-333, 1947.
- (63) - KISSMEYER-NIELSEN (F.) - A study of the thrombopoiesis in various thrombocytopenic stades. II- Idiopathic thrombopenic purpura. *Acta Med. Scand.* 141- 205-213, 1951.

- (63b) - KISSMEYER-NIELSEN (F.) - A study of the thrombopoiesis in various thrombopenic stades. III- Thrombocytopenia secondary to various non leukemic splenomegaly. Acta Med. Scand. 141, 214-220, 1951.
- (64) - DAMESHEK (W.), MILLER (E.B.) - The megacaryocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura, a form of hypersplenism. Blood I, 27-50, 1946.
- (65) - PISCOTTA (A.V.), STEFANINI (M.), DAMESHEK (W.) - Studies on platelet X - Morphologic characteristics of megacaryocytes by phase contrast microscopy in normals and patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood 8, 703-723, 1953.
- (66) - ROSKAN (J.) - Purpura hémorragique et thrombopénie. Pathogénie du syndrome hémogénique engendré par l'administration de sérum antiplaquettes. Sang 8, 129-169, 1934.
- (67) - ROSKAM (J.) - L'hémostase spontanée. I vol. 188 p. Masson 1951.
- (68) - LUISETTI (G.L.) - Sul alcuni casi di porpora comparsi durante la terapia con idrazide dell' acido isonicotinico. Minerva Med. 45, 697-702, 1954.
- (69) - WURZEL (H.A.), MAYOCK (R.L.) - Thrombocytopenia induced by sodium para-amino-salicylic acid. Report of a case. J.A.M.A. 1953, 1094-1095, 1953.
- (70) - BENSAUDE (R.), RIVET (L.) - Purpura hemorragique et tuberculose. Presse med. 469-470, 1906.
- (71) - DEBRE (R.), BRISSAUD (H.E.), SOULIER (J.P.) - Purpura, thrombopénie et streptomycine. Sang 20, 363-357, 1949.
- (72) - GALY (P.), FAVRE GILLY(J.), MOREL (P.) - Purpura thrombocytopenique au début du traitement d'une tuberculose hématogène par la streptomycine. Intérêt de la formule mégacaryocytaire pour suivre la guérison. Sang 20, 357-366, 1949.
- (73) - DAUSSET (J.) - Evolution et traitement des anémies hémolytiques acquises. Sem. Hop. Paris (à paraître).
- (74) - DAUSSET (J.) - Immunohématologie des plaquettes et des leucocytes. Presse Med. 61, 1953-1955, 1953.
- (75) - DAUSSET (J.), NENNA (A.), TSEVRENIS (H.), BERNARD (J.) - Leucoagglutinines IV- La pancytopenie chronique idopathique avec leucoagglutinine sérique. Rev. Hémat. 8, 316-339, 1953.
- (76) - MOESCHLIN (S.), WAGNER (K.) - Agranulocytosis due to the occurrence of leucocytes agglutinins (Pyramidon and cold agglutinins) Acta haemat. 8, 29-41, 1952.

- (77) - HIRSCH (E.O.), FAVRE GILLY (J.), DAMESHEK (W.) - Thrombopathic thrombocytopenia : successful transfusion of blood platelets Blood 5, 568-580, 1950.
- (78) - DILLARD (G.H.L.), BRECHER (G.), CRONKITE (E.P.) - Séparation, concentration and transfusion of platelets. Proc. Soc. Exp. Biol. 78, 796-799, 1951.
- (79) - JULLIARD (J.), MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), BERNARD (J.), COLVEZ (P.) LECOMTE (M.) - Premiers essais de transfusion à l'homme de leucocytes et de plaquettes marquées au radiophosphore. Presse Med. 60, 518-520, 1952.
- (80) - HIRSCH (E.O.), GARDNER (Fr.H.) - The transfusion of human blood platelets. J. Lab. clin. Med. 89, 556-569, 1952.
- (81) - MINOR (Al.H.), BURNETT (L.) - Clinical experience with transfusions of platelets separated from normal blood. J.A.M.A. 152, 1225-1227, 1953.
- (82) - STEFANINI (M.), DAMESHEK (W.) - Collection, preservation and transfusion of platelets (With spécial reference to the factor affecting "survival rate" and the clinical effectiveness of transfused platelets. New England J. Med. 248, 797-802, 1953
- (83) - VAN CREVELD (S.), PAULSEN (M.M.P.), BARTELS (H.J.M.), VONK (R.R.) Transfusions of suspensions of blood platelets in thrombocytopenia and thrombopathia. J. Clin. Path. 6, 41-45, 1953.
- (84) - WOODS (M.C.), GAMBLE (Fr.N.), FURTH (J.), BIGELOW (R.R.) - Control of the postirradiation hemorrhagic state by platelet transfusions. Blood 8, 545-553, 1953.
- (85) - ROBSON (M.N.), DUTHIE (J.) - Capillary resistance and adrenocortical-activity. Brit. Med. J. 2, 971, 1950.
- (86) - JACOBSON (B.M.) - Effects of cortisone and corticotropin on prolonged bleeding time. Arch. Intern. Med. 92, 471-477, 1952.
- (87) - MEDICAL RESEARCH COUNCIL by the panel on the haematological applications of ACTH and cortisone. Brit. Med. J. 1, 1260, 1952.
- (88) - DAMESHEK (W.) - Haematological applications of ACTH and cortisone. Brit. Med. J. 2, 612, 1952.
- (89) - Mme SALMON BONNERAOT (S.) - Contribution à l'étude du traitement par l'ACTH et la cortisone de l'anémie hémolytique avec auto-anticorps incomplets. Thèse, Paris 1953.
- (90) - COSTE (F.), MALLARME (J.), BOUREL (M.) - La place de la corticothérapie (ACTH et cortisone) dans le traitement des hémopathies. Ann. Med. 54, 377-430, 1953.



- (91) - MOESCHLIN (S.), BAGUENA (R.), BAGUENA (J.) - The influence of ACTH and cortisone on experimental antibody production in rabbits. *Int. arch. Allergy.* 4, 83-100, 1953.
- (92) - EVANS (R.S.), LIU (C.K.) - Effect of corticotropin on chronic severe primary thrombocytopenic purpura. *Arch. Int. Med.* 88, 503-506, 1951.
- (93) - FRANCK (S.), ALATAS (S.) BELER (B.), ASA (N.), PECIKYAN (R.) - Cortisone et thrombopénie. *Istambul contr. Clin. Sc.* 2, 62-76, 1952.
- (94) - STEFANINI (M.), SANTIAGO (E.P.), CHATTERJEA (J.B.), DAMESHEK (W.), SALOMON (L.) - Corticotropin (ACTH) and cortisone in idiopathic thrombocytopenic purpura. *J.A.M.A.* 149, 647-453, 1952.
- (95) - FALOON (W.W.), GREENE (W.), LOZNER (E.L.) - The hemostatic defect in thrombopenia as studied by the use of ACTH and cortisone. *Amer. J. Med.* 13, 12, 1952.
- (96) - VIRKUNNEN (M.) - Corticotrophin and cortison in the treatment of agranulocytosis and purpura thrombopenic. *Arch. Intern. Med.* 90, 580, 1952.
- (97) - WILSON (S.J.), EISEMANN (G.) - Effect of ACTH and cortisone on thrombocytopenic purpura *Amer. J. Med.* 13, 21-26, 1952.
- (98) - GREENE (R.W.), FALOON (W.W.), LOZNER (E.L.) - The use of ACTH in preparing patients with idiopathic thrombocytopenic purpura for splénectomy. *Amér. J. Med. Sci.* 223, 203-213, 1953.
- (99) - ADAMSON (D.G.), WALKER (M.B.), MACINTOSH (A.E.) - ACTH and cortisone in idiopathic thrombocytopenic and Schönlein-Henoch (allergic) purpura. *Brit. Med. J.* 2, 656-658, 1953.
- (100) - YOSHIRO HIRAOKA - On the presence of a thrombocytopenic factor in the blood serum and the spleen of patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta haemat. Japonica.* 16, 397, 1953.

... (1) ...
... (2) ...
... (3) ...

... (4) ...
... (5) ...
... (6) ...

... (7) ...
... (8) ...
... (9) ...

... (10) ...
... (11) ...
... (12) ...

776

776